



UNIVERSIDAD DE CORDOBA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA



Montería, mayo 11 de 2020

Señores:

**COMITÉ CURRICULAR
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

Cordial saludo.

Por medio de la presente se hace entrega del informe final del trabajo de grado titulado **VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE OXÍGENO DISUELTO Y DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO (DBO₅) EN AGUAS NATURALES Y RESIDUALES EN EL LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN Y CALIDAD AMBIENTAL DEL SENA – REGIONAL CÓRDOBA**, a cargo de Saul de Jesús Ramos Trejos con C.C.1069492270, bajo la dirección del docente Carlos Andrés Burgos Galeano.

Gracias por la atención prestada

Atentamente,

Carlos Andrés Burgos Galeano
Director de trabajo de grado

**VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN
DE OXÍGENO DISUELTO Y DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGENO (DBO₅) EN
AGUAS NATURALES Y RESIDUALES EN EL LABORATORIO DE
INVESTIGACIÓN Y CALIDAD AMBIENTAL DEL SENA – REGIONAL
CÓRDOBA**



SAUL RAMOS TREJOS

Estudiante

Director

CARLOS BURGOS GALEANO

Magister en Ciencias Ambientales.

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
MONTERIA – CÓRDOBA**

2020

**VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN
DE OXÍGENO DISUELTO Y DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGENO (DBO₅) EN
AGUAS NATURALES Y RESIDUALES EN EL LABORATORIO DE
INVESTIGACIÓN Y CALIDAD AMBIENTAL DEL SENA – REGIONAL
CÓRDOBA**

SAUL RAMOS TREJOS

Estudiante

TRABAJO DE GRADO

Requisito para optar al título de Químico

Director

CARLOS BURGOS GALEANO

Magister en Ciencias Ambientales.

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
MONTERIA – CÓRDOBA**

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a mi madre, quien fue mi apoyo y consejera en toda mi carrera, su tenacidad y carácter me inspiro en gran parte a concluir esta etapa de crecimiento profesional.

Al departamento de química: profesores, directivos y estudiantes, quienes día a día dan lo mejor por hacer crecer este programa y son inspiración de aprendizaje y crecimiento personal.

AGRADECIMIENTOS

A todos los que hicieron parte de este proyecto; profesores, amigos, familia etc.

Al laboratorio de investigación y calidad ambiental del SENA, por haberme brindado la oportunidad de desarrollar este proyecto y aportar a cabalidad los conocimientos adquiridos en el programa de química, al profesor CARLOS BURGOS GALEANO, por coordinar y guiar en el desarrollo de este trabajo; al químico CRISTIAN CASTELLANOS, quien fue mi compañero y apoyo en cada una de las etapas de este proyecto; a la universidad de Córdoba constituida por cada uno de los profesores del programa de química quienes aportaron una semilla en mi crecimiento profesional y fueron entes de inspiración en mi formación.

Quiero agradecer a mi familia en especial a mi madre CERLY RAMOS, quien dio lo mejor de ella para hacer posible que llegara a la final de mi carrera, y mis amigos del programa con los cuales compartí la mejor de las experiencias en el programa.

LISTA DE ACRÓNIMOS

AOAC	Asociación oficial de química analítica
ARD	Agua residual doméstica
ARND	Agua residual no doméstica
BAL	Balón
CCIT	Centro de comercio industria y turismo
DBO	Demanda bioquímica de oxígeno
IDEAM	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales
IEC	Comité electrotécnico internacional
ISO	Organización internacional para la estandarización
LCM	Límite de cuantificación del método
LDM	Límite de detección del método
LICAM	Laboratorio de investigación y calidad ambiental
Nro	Número
NTC	Norma técnica colombiana
N.A	No aplica
OD	Oxígeno disuelto
OTA	Otros procedimientos técnicos de análisis
PIG	Pipeta graduada
PIV	Pipeta volumétrica
PRO	Probeta
PTA	Procedimiento técnico de análisis
S	Desviación estándar
SENA	Servicio nacional de aprendizaje
SM	Standard Methods
TEM	Temperatura
U_R	Incertidumbre estándar relativa
VD	Vidrio

VIM	Vocabulario internacional de metrología
%CV	Porcentaje de coeficiente de variación
%E	Porcentaje de error
%R	Porcentaje de recuperación

Tabla de contenido

1. INTRODUCCIÓN.....	16
2. MARCO TEÓRICO.....	18
2.1. GENERALIDADES.....	18
2.1.1. AGUAS NATURALES.....	18
2.1.1.1. AGUAS SUPERFICIALES.....	18
2.1.1.2. AGUAS SUBTERRANEAS.....	18
2.1.2. CONTAMINACIÓN DE AGUAS NATURALES.....	19
2.1.2.1. PRINCIPALES CONTAMINANTES DE LAS AGUAS NATURALES.....	19
2.1.2.1.1. RESIDUOS CON REQUERIMIENTO DE OXÍGENO.....	19
2.1.2.1.2. PATÓGENOS.....	19
2.1.2.1.3. NUTRIENTES.....	19
2.1.2.1.4. SALINIDAD.....	20
2.1.2.1.5. METALES PESADOS.....	20
2.1.2.1.6. COMPUESTOS ORGÁNICOS TRAZA.....	20
2.1.2.1.7. SUSTANCIAS RADIOACTIVAS.....	20
2.1.2.1.8. CONTAMINACIÓN TÉRMICA.....	21
2.1.2.1.9. SEDIMENTOS.....	21
2.1.3. AGUAS RESIDUALES.....	21
2.1.3.1. AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS.....	21
2.1.3.2. AGUAS RESIDUALES NO DOMÉSTICAS.....	22
2.2. DEFINICIONES.....	22
2.2.1. OXÍGENO DISUELTO.....	22
2.2.2. SOLUBILIDAD DEL OXÍGENO EN LA MATRIZ AGUA.....	23
2.2.2.1. CLORINIDAD.....	26
2.2.2.2. SALINIDAD.....	27
2.2.3. MÉTODOS DE ANÁLISIS PARA LA DETERMINACIÓN DE OXÍGENO DISUELTO EN AGUAS.....	27
2.2.3.1. MÉTODO IODOMÉTRICO WINKLER – MODIFICACIÓN DE AZIDA.....	27
2.2.3.2. MÉTODO ELECTRODO DE MEMBRANA.....	31
2.2.4. MÉTODO DE ANÁLISIS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO.....	35
2.2.4.1. MÉTODO PRUEBA DE LOS CINCO DÍAS.....	35
2.3. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS.....	36

2.3.1.	LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO.....	37
2.3.2.	LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO.....	38
2.3.3.	INTERVALO DE TRABAJO.	38
2.3.4.	PRECISIÓN.....	39
2.3.4.1.	REPETIBILIDAD.....	39
2.3.4.2.	REPRODUCIBILIDAD.....	39
2.3.5.	EXACTITUD	40
2.3.6.	CRITERIOS DE ACEPTACIÓN DE PARÁMETROS DE DESEMPEÑO	41
2.3.7.	INCERTIDUMBRE	42
2.3.7.1.	PROCESO DE ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE	44
2.3.7.1.1.	ESPECIFICACIÓN DEL MENSURANDO	44
2.3.7.1.2.	IDENTIFICACIÓN DE LAS FUENTES DE INCERTIDUMBRE	44
2.3.7.1.3.	CUANTIFICACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE	45
2.3.7.1.3.1.	EVALUACIÓN TIPO A	46
2.3.7.1.3.2.	EVALUACIÓN TIPO B	47
2.3.7.1.4.	CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES DE LA INCERTIDUMBRE	48
2.3.7.1.5.	FUENTES Y VALORES COMUNES DE INCERTIDUMBRE	49
2.3.7.1.5.1.	MEDICIÓN DE MASA	50
2.3.7.1.5.2.	MEDICIÓN DEL VOLUMEN.....	51
2.3.7.1.5.3.	PREPARACIÓN DE ESTÁNDARES.....	52
2.3.7.1.5.4.	EQUIPOS INSTRUMENTALES DE MEDICIÓN.....	53
2.3.7.2.	CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE COMBINADA.....	54
2.3.7.2.1.	INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR COMBINADA.....	54
2.3.7.2.2.	LA INCERTIDUMBRE EXPANDIDA	55
2.3.7.2.3.	REPORTE DE INCERTIDUMBRE	55
3.	OBJETIVOS	56
3.1.	OBJETIVO GENERAL	56
3.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	56
4.	METODOLOGÍA ANALÍTICA.....	57
4.1.	PARTE EXPERIMENTAL.....	57
4.2.	MATERIALES Y EQUIPOS.....	57
4.3.	REACTIVOS.....	58
4.4.	MUESTREO Y PRESERVACIÓN	59

4.5.	LIMITACIONES E INTERFERENCIAS.....	60
4.6.	PROTOCOLO DE ANÁLISIS.....	61
4.6.1.	OXÍGENO DISUELTO	61
4.6.2.	DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO	63
5.	METODOLOGÍA SEGÚN PLAN DE VALIDACIÓN.....	69
5.1.	OXÍGENO DISUELTO	69
5.2.	DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO	72
6.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	75
6.1.	OXÍGENO DISUELTO	75
6.1.1.	RECHAZO DE DATOS	75
6.1.2.	EXACTITUD	76
6.1.3.	PRECISIÓN.....	78
6.1.4.	INCERTIDUMBRE.....	80
6.2.	DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO	81
6.2.1.	RECHAZO DE DATOS	81
6.2.2.	LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO	83
6.2.3.	EXACTITUD	84
6.2.4.	PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN.....	85
6.2.5.	PRECISIÓN.....	86
6.2.6.	INCERTIDUMBRE.....	91
7.	CONCLUSIONES.....	91
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	93
9.	ANEXOS.....	95
9.1.	ANEXO 1 – RESULTADOS VALIDACIÓN DE OXÍGENO DISUELTO.....	95
9.2.	ANEXO 2 – RESULTADOS VALIDACIÓN DBO5.....	109
9.3.	ANEXO 3 – VERIFICACIÓN DE MATERIAL VOLUMÉTRICO	128

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Solubilidad del Oxígeno en agua saturada de aire a diferentes temperaturas y clorinidades, a la presión atmosférica (101,3 KPa) (Baird, Eaton, & Rice, 2017)	23
Tabla 2. Definiciones del concepto de “Validación” en ISO 9000, ISO/IEC 17025 y VIM...37	
Tabla 3. Valores aceptables según la AOAC para el factor de recuperación en función de la concentración del analito.	41
Tabla 4. Límites del coeficiente de variación para el análisis de trazas en función de la concentración de analito.	42
Tabla 5. Criterios para seleccionar el tipo de función de distribución.	48
Tabla 6. Análisis de rechazo de datos de los resultados de estándares.....	75
Tabla 7. Análisis de rechazo de datos de los resultados de las muestras.	76
Tabla 8. Concentración de oxígeno en agua destilada aireada hasta saturación bajo las condiciones de presión de monería.....	77
Tabla 9. Porcentaje de error de los diferentes rangos de temperatura y saturación de oxígeno.	77
Tabla 10. Repetibilidad de resultados de medición de oxígeno a las diferentes temperaturas de saturación Analista 1.....	78
Tabla 11. Repetibilidad de resultados de medición de oxígeno a las diferentes temperaturas de saturación Analista 2.....	79
Tabla 12. Repetibilidad de resultados de medición de oxígeno en muestras de aguas natural y residual.	79
Tabla 13. Reproducibilidad entre días de resultados de medición de oxígeno a las diferentes temperaturas de saturación	79
Tabla 14. Reproducibilidad entre analistas de los resultados de medición de oxígeno a las diferentes temperaturas de saturación.....	80
Tabla 15. Reporte de incertidumbre expandida para las concentraciones de oxígeno a las temperaturas de trabajo.	80
Tabla 16. Análisis de rechazo de datos de los resultados de estándares.....	81
Tabla 17. Análisis de rechazo de datos de los resultados de las muestras.....	82
Tabla 18. Análisis de rechazo de datos de los resultados de adicionados.	82
Tabla 19. Análisis de rechazo de datos y resultados del límite de detección y cuantificación del método.....	83
Tabla 20. Porcentajes de error obtenidos para los diferentes rangos de concentración evaluados.	84
Tabla 21. Porcentajes de recuperación obtenidos para los adicionados evaluados en agua natural y residual.	85
Tabla 22. Repetibilidad de resultados de estándares Analista 1.....	87
Tabla 23. Repetibilidad de resultados de estándares Analista 2.....	87
Tabla 24. Repetibilidad de resultados de muestras Analista 1.	87
Tabla 25. Repetibilidad de resultados de adicionados Analista 1.	88
Tabla 26. Reproducibilidad entre días de resultados de estándares Analista 1.....	89
Tabla 27. Reproducibilidad entre días de resultados de muestras Analista 1.	89
Tabla 28. Reproducibilidad entre días de resultados de adicionados Analista 1.	90
Tabla 29. Reproducibilidad entre analistas de resultados de estándares Analista 1.....	90

Tabla 30. Reporte de incertidumbre expandida para las concentraciones de los diferentes rangos.	91
Tabla 31. Rechazo de datos para resultados de réplicas de agua destilada saturada con oxígeno a 20 °C.	95
Tabla 32. Rechazo de datos para resultados de réplicas de agua destilada saturada con oxígeno a 30 °C.	96
Tabla 33. Rechazo de datos para resultados de réplicas de agua destilada saturada con oxígeno a 40 °C.	97
Tabla 34. Rechazo de datos para resultados de réplicas de muestra de agua natural.	98
Tabla 35. Rechazo de datos para resultados de réplicas de muestra de agua residual.	98
Tabla 36. Resultados obtenidos de la validación de oxígeno disuelto.	99
Tabla 37. Resultados de exactitud para las temperaturas de saturación de oxígeno evaluadas.	100
Tabla 38. Resultados de precisión como repetibilidad y reproducibilidad entre días para las temperaturas de saturación de oxígeno evaluadas.	101
Tabla 39. Resultados de precisión como reproducibilidad entre analistas para las temperaturas de saturación de oxígeno evaluadas.	102
Tabla 40. Resultados de precisión como repetibilidad para muestras.	102
Tabla 41. Fuentes de incertidumbre asociadas a la determinación de oxígeno disuelto para la temperatura de 20°C.	103
Tabla 42. Fuentes de incertidumbre asociadas a la determinación de oxígeno disuelto para la temperatura de 30°C.	104
Tabla 43. Fuentes de incertidumbre asociadas a la determinación de oxígeno disuelto para la temperatura de 40°C.	105
Tabla 44. Rechazo de datos para resultados de réplicas de estándar para determinación de límite de detección y cuantificación del método.	109
Tabla 45. Rechazo de datos para resultados de réplicas de estándar bajo 19,8 mg O ₂ /L.	110
Tabla 46. Rechazo de datos para resultados de réplicas de estándar medio 198 mg O ₂ /L.	111
Tabla 47. Rechazo de datos para resultados de réplicas de estándar medio 990 mg O ₂ /L.	112
Tabla 48. Rechazo de datos para resultados de réplicas de muestra de agua natural.	112
Tabla 49. Rechazo de datos para resultados de réplicas de muestra de agua residual.	113
Tabla 50. Rechazo de datos para resultados de réplicas de adición de muestra de agua natural.	113
Tabla 51. Rechazo de datos para resultados de réplicas de adición de muestra de agua residual.	114
Tabla 52. Resultados obtenidos de la validación de demanda bioquímica de oxígeno.	115
Tabla 53. Resultados de exactitud para los estándares evaluados.	116
Tabla 54. Resultados de precisión como repetibilidad y reproducibilidad entre días para los estándares evaluados.	117
Tabla 55. Resultados de precisión como repetibilidad y reproducibilidad entre analistas para los estándares evaluados.	118
Tabla 56. Resultados de precisión como repetibilidad y reproducibilidad entre días para las muestras.	119

Tabla 57. Resultados de precisión como repetibilidad y reproducibilidad entre días para adicionados de muestras.	120
Tabla 58. Resultados de porcentajes de recuperación para adicionados de muestras.	121
Tabla 59. Fuentes de incertidumbre asociadas a la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno de estándar bajo 19,8 mg O ₂ /L.	122
Tabla 60. Fuentes de incertidumbre asociadas a la determinación de la demanda bioquímica oxígeno de estándar medio 198 mg O ₂ /L.....	123
Tabla 61. Fuentes de incertidumbre asociadas a la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno de estándar alto 990 mg O ₂ /L.	124
Tabla 62. Verificación gravimétrica de balanza analítica.	128
Tabla 63. Verificación de matraz aforado de 1000 mL código interno: BAL-VD-1000-001.	128
Tabla 64. Verificación de bureta de 10 mL código interno: BUR-VD-10-001.....	129
Tabla 65. Verificación de pipeta volumétrica de 1 mL código interno: PIV-VD-1-001.	129
Tabla 66. Verificación de pipeta volumétrica de 1 mL código interno: PIV-VD-1-002.	130
Tabla 67. Verificación de pipeta volumétrica de 1 mL código interno: PIV-VD-1-003.	130
Tabla 68. Verificación de matraz aforado de 1000 mL código interno: BAL-VD-1000-002.	131
Tabla 69. Verificación de probeta graduada de 250 mL código interno: PRO-VD-250-001.	131
Tabla 70. Verificación de matraz aforado de 1000 mL código interno: BAL-VD-1000-003.	132
Tabla 71. Verificación de pipeta volumétrica de 10 mL código interno: PIV-VD-10-007...132	132
Tabla 72. Verificación de pipeta volumétrica de 50 mL código interno: PIV-VD-50-005...133	133
Tabla 73. Verificación de matraz aforado de 500 mL código interno: BAL-VD-500-003...133	133
Tabla 74. Verificación de matraz aforado de 250 mL código interno: BAL-VD-250-006...134	134
Tabla 75. Verificación de pipeta volumétrica de 50 mL código interno: PIV-VD-50-002...134	134
Tabla 76. Verificación de pipeta volumétrica de 10 mL código interno: PIV-VD-10-004...135	135
Tabla 77. Verificación de pipeta volumétrica de 1 mL código interno: PIV-VD-1-004.	135
Tabla 78. Verificación de pipeta graduada de 10 mL código interno: PIG-VD-10-001.....	136
Tabla 79. Verificación de pipeta graduada de 10 mL código interno: PIG-VD-10-002.....	136
Tabla 80. Verificación de pipeta graduada de 10 mL código interno: PIG-VD-10-003.....	137
Tabla 81. Verificación de pipeta graduada de 10 mL código interno: PIG-VD-10-004.....	137
Tabla 82. Verificación de pipeta volumétrica de 1 mL código interno: PIV-VD-1-006.	138

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema del electrodo voltamétrico de oxígeno.....	34
Figura 2. Diagrama Causa – Efecto para oxígeno disuelto.....	71
Figura 3. Diagrama Causa – Efecto para Demanda bioquímica de oxígeno.....	74
Figura 4. Contribuciones de las fuentes de incertidumbre saturación de oxígeno a 20 °C.	106
Figura 5. Contribuciones de las fuentes de incertidumbre saturación de oxígeno a 30 °C.	107
Figura 6. Contribuciones de las fuentes de incertidumbre saturación de oxígeno a 40 °C.....	108
Figura 7. Contribuciones de las fuentes de incertidumbre estándar bajo 19,8 mg O ₂ /L....	125
Figura 8. Contribuciones de las fuentes de incertidumbre estándar medio 198 mg O ₂ /L.	126
Figura 9. Contribuciones de las fuentes de incertidumbre estándar alto 990 mg O ₂ /L.....	127

RESUMEN

El siguiente trabajo tuvo como objetivo la validación de una metodología analítica para la determinación de oxígeno disuelto y demanda bioquímica de oxígeno en muestras de agua natural y residual mediante los métodos Winkler modificación de azida y prueba de los cinco días respectivamente. Los ensayos se realizaron en el Laboratorio de Investigación y Calidad Ambiental – LICAM del Centro de Comercio, Industria y Turismo del SENA Regional Córdoba. Para la determinación de dichos analitos se evaluaron los parámetros de límite de detección, límite de cuantificación, exactitud, precisión e incertidumbre. El límite de cuantificación para la demanda bioquímica de oxígeno fue de 2,63 mg O₂/L, además, los resultados obtenidos mostraron que la exactitud de la metodología evaluada es satisfactoria, teniendo en cuenta que los porcentajes de error para el método de oxígeno disuelto no superó el 10 % y el método de la demanda bioquímica de oxígeno no superó el 15,40 %; asimismo, para la demanda bioquímica de oxígeno se obtuvieron porcentajes de recuperación entre 83.74 – 93.00 % y 79.82 – 84.96 % para los adicionados en agua natural y residual respectivamente, los cuales se encuentran dentro del rango establecido en el procedimiento de control de calidad analítica del laboratorio de investigación y calidad ambiental al igual que en la AOAC, para el nivel de concentración estudiado. La precisión, evaluada como repetibilidad y reproducibilidad, muestra que los porcentajes de coeficiente de variación calculados fueron inferiores al 10 % para ambas metodologías, los cuales se encuentran por debajo de los valores máximos establecidos por la AOAC para los niveles de concentración estudiados. Los valores determinados para los parámetros de desempeño exactitud y precisión se encuentran dentro de los rangos establecidos en el Procedimiento de Control de Calidad Analítica del laboratorio (LICAM).

1. INTRODUCCIÓN

Los laboratorios que prestan servicios de análisis en matrices ambientales, deben demostrar confiabilidad y veracidad en los resultados que emiten a sus clientes debido a que, en la actualidad, existen diferentes entidades ambientales y de salud que de manera rigurosa lo exigen. Una forma de garantizar validez en los resultados emitidos por un laboratorio, es mediante la validación de métodos analíticos; con lo cual, se asegura que un método es adecuado para el propósito que ha sido diseñado. La validación es una herramienta con la que se establece evidencia documental que un procedimiento analítico conducirá, con un alto grado de seguridad a la obtención de resultados precisos y exactos dentro de las especificaciones y atributos de calidad previamente establecidos, recurriendo a parámetros estadísticos como son precisión (repetibilidad y reproducibilidad), exactitud (porcentaje de error y recuperación), límite de detección, límite de cuantificación, intervalo de trabajo e incertidumbre.

El oxígeno es un compuesto poco soluble en agua, indispensable para la vida acuática, cuya concentración da indicios de contaminación por materia orgánica biodegradable y alta actividad microbiológica. Concentraciones bajas de este gas en las aguas, indica que estas presentan altas concentraciones de materia orgánica en conjunto con una alta actividad microbiológica.

La demanda bioquímica de oxígeno, es un parámetro fisicoquímico asociado con la medida indirecta de la materia orgánica presente en una muestra de agua; mide el cambio en la concentración de Oxígeno disuelto causado por microorganismos a medida que degradan la materia orgánica durante 5 días en la oscuridad a 20 °C, su aplicación más amplia está en la medición de cargas de desechos en plantas de tratamiento y en la evaluación de la eficiencia de la remoción de la materia orgánica.

Es por ello que los análisis de oxígeno disuelto y demanda bioquímica de oxígeno son fundamentales en el control de procesos de tratamiento biológico y físico de agua residual y para evaluar el cumplimiento de las limitaciones que regulan su

vertido, razón por la cual se hace necesario que el resultado obtenido en el análisis demuestre alto grado de confianza.

El Laboratorio de investigación y calidad ambiental del SENA, Regional Córdoba - Montería, desarrolla actividades de prestación de servicios en materia ambiental, empleando técnicas analíticas que cumplan las exigencias de un sistema de gestión de calidad basado en la norma NTC/ISO/IEC 17025:2017. La validación lograda en este trabajo es un soporte técnico para alcanzar la acreditación ante los entes de control como lo es el instituto de hidrología, meteorología y estudios ambientales IDEAM, bajo los lineamientos de la norma citada anteriormente

2. MARCO TEÓRICO

2.1. GENERALIDADES

2.1.1. AGUAS NATURALES

Las aguas naturales son aquéllas cuyas propiedades originales no han sido modificadas por la actividad humana; y se clasifican principalmente en: A) superficiales, como aguas de lagos, lagunas, pantanos, arroyos con aguas permanentes y/o intermitentes, ríos y sus afluentes, nevados y glaciares; B) subterráneas, en estado líquido o gaseoso que afloren de forma natural o por efecto de métodos artificiales.

2.1.1.1. AGUAS SUPERFICIALES

Las aguas superficiales son aquellas que se encuentran sobre la superficie del suelo. Incluyen las aguas de los ríos, lagos, pantanos, estanques, al igual que la fracción de lluvia retenida por la vegetación, y las depresiones rugosas que se encuentran en la superficie del suelo (Musy & Higy, 2010).

2.1.1.2. AGUAS SUBTERRANEAS

Las aguas subterráneas son aquellas que se infiltran en el suelo, y permanecen allí por unos momentos o muchos años (Fase subterránea del ciclo del agua). Estas se encuentran como aguas del suelo y aguas del subsuelo. Donde las aguas del suelo, están presentes en la zona insaturada de la tierra, que es la zona donde se encuentran las raíces de las plantas, y constituye el límite superior del nivel freático. Este es también el lugar donde los materiales y sustancias se transfieren mediante procesos continuos entre el suelo, las plantas y la atmósfera.

Y las aguas del subsuelo, Corresponden a las aguas en los acuíferos. La infiltración renueva el agua del subsuelo y las reservas de agua subterránea, y en el proceso de viajar a través de los acuíferos, esta agua mantiene la descarga del flujo de agua subterránea (flujo base) que alimenta los manantiales y los ríos. El nivel freático está influenciado por el régimen de percolación de la lluvia o el agua de riego a través de la zona no saturada (Musy & Higy, 2010).

2.1.2. CONTAMINACIÓN DE AGUAS NATURALES

Los contaminantes pueden ser descargados directamente a las aguas o pueden llegar a estas desde la atmósfera o por medio de la escorrentía del suelo. Las aguas subterráneas pueden recoger contaminantes desde las aguas superficiales contaminadas que fluyen de la superficie hacia los acuíferos subterráneos como parte del proceso de recarga. Otra fuente contaminante de mayor preocupación es la lixiviación de desechos que han sido descartados inadecuadamente en la superficie o en vertederos. En particular, los productos químicos solubles (hidrófilos) tienen una fuerte tendencia a permanecer disueltos en el agua y a moverse con el flujo de agua superficial o subterránea. Las especies más hidrófobas en el agua, tendrán una mayor tendencia a ser retenidas en superficies minerales o en sedimento (Manahan & E, 2010).

2.1.2.1. PRINCIPALES CONTAMINANTES DE LAS AGUAS NATURALES

Generalmente, la contaminación de las aguas se produce por vertidos procedentes de su utilización a nivel urbano, industrial y agropecuario, aunque también se puede dar a través de lixiviados procedentes de vertidos incontrolados en suelo.

2.1.2.1.1. RESIDUOS CON REQUERIMIENTO DE OXÍGENO

Son sustancias que se oxidan en presencia de oxígeno, debido a la actividad bacteriana, procedentes de las aguas residuales urbanas, o de los vertidos de determinadas industrias, como la alimentaria o papelera. Producen una disminución de la cantidad de oxígeno en el agua, afectando a las poblaciones animales y vegetales acuáticas. También se produce la aparición de olores, sabores y colores que disminuyen su calidad.

2.1.2.1.2. PATÓGENOS

Son aquellos organismos que crecen y se multiplican en un hospedador. Una forma de infección por patógenos es a través de la ingestión de agua contaminada.

2.1.2.1.3. NUTRIENTES

En este contexto se entiende por nutrientes como aquellos elementos químicos esenciales para el crecimiento de los seres vivos. Entre ellos se encuentran el nitrógeno, fósforo, carbono, azufre, potasio, calcio, hierro, manganeso, boro y cobalto. Se consideran como contaminantes cuando sus concentraciones son tan elevadas que permiten un crecimiento excesivo de las plantas acuáticas, disminuyéndose así la calidad del agua. A este proceso se le denomina *eutrofización*, y es producido especialmente por el enriquecimiento del agua en nitrógeno y fósforo. Al descomponerse las algas tras su muerte, se consumirá oxígeno, lo que producirá los efectos comentados con los residuos con requerimiento de oxígeno.

2.1.2.1.4. SALINIDAD

El agua se mineraliza a su paso a través de suelo y rocas. Además, determinados efluentes industriales procedentes de neutralizaciones ácido - base, o las aguas residuales urbanas cuando se ha utilizado sal en las carreteras para fundir el hielo de las carreteras, contribuyen a aumentar la salinidad de las aguas. La salinidad es un factor limitante a la hora de asignar un uso al agua (potable, ganado, regado etc.).

2.1.2.1.5. METALES PESADOS

Algunos metales pesados son nutrientes para algunos animales y plantas, pero a determinadas concentraciones son tóxicos. La principal entrada en el organismo humano es la ingestión. El estado de oxidación y la naturaleza del compuesto determinan su toxicidad.

2.1.2.1.6. COMPUESTOS ORGÁNICOS TRAZA

Son aquellos que se encuentran en una concentración muy baja. Los organismos vivos no han sido expuestos a este tipo de compuestos más que recientemente, por lo que resulta una preocupación los posibles efectos que se puedan producir como consecuencia de largas exposiciones. Dentro de este grupo se encuentran los pesticidas y los compuestos orgánicos volátiles.

2.1.2.1.7. SUSTANCIAS RADIOACTIVAS

La contaminación por sustancias radiactivas está relacionada con los residuos que se producen durante todo el ciclo de producción y utilización del uranio, que se utiliza con fines científicos, biomédicos, químicos, industriales y militares.

2.1.2.1.8. CONTAMINACIÓN TÉRMICA

Se produce por la utilización de agua como refrigerante en numerosos procesos industriales. Se toma agua que luego es devuelta a mayor temperatura a su origen. Por encima de ciertos límites ese aumento de temperatura provoca efectos negativos sobre el desarrollo de la vida acuática: disminuye la cantidad de oxígeno disuelto, y además aumenta la necesidad de oxígeno como consecuencia del aumento de la velocidad de las reacciones metabólicas producido por el aumento de temperatura.

2.1.2.1.9. SEDIMENTOS

Son materiales que pueden tener una composición variada. La mayoría de los sedimentos se producen por el proceso natural de erosión, la remoción de arenas en las orillas de los cauces y los efluentes domésticos e industriales. Los efectos perjudiciales que producen son la disminución de la capacidad de lagos y embalses, aumento de la turbidez (que reduce la penetración en el agua de la luz), y afecta a la vida acuática de los fondos. (María Grau Saenz, 2006)

2.1.3. AGUAS RESIDUALES

Según la Resolución 0631 de 2015 del Ministerio de Ambiente y desarrollo sostenible “Por la cual se establecen los parámetros y los valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a los sistemas de alcantarillado público y se dictan otras disposiciones”. Las aguas residuales pueden ser Domésticas (ARD) y no Domésticas (ARND).

2.1.3.1. AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS

Son las procedentes de los hogares, así como las de las instalaciones en las cuales se desarrollan actividades industriales, comerciales o de servicios y que correspondan a:

- a. Descargas de los retretes y servicios sanitarios.
- b. Descargas de los sistemas de aseo personal (duchas y lavamanos), de las áreas de cocinas y cocinetas, de las pocetas de lavado de elementos de aseo y lavado de

paredes y pisos y del lavado de ropa (No se incluyen las de los servicios de lavandería industrial).

2.1.3.2. AGUAS RESIDUALES NO DOMÉSTICAS

Son las procedentes de las actividades industriales, comerciales o de servicios distintas a las que constituyen aguas residuales domésticas.

2.2. DEFINICIONES

2.2.1. OXÍGENO DISUELTO

Es difícil no exagerar sobre la importancia del oxígeno molecular (O_2) en la regulación de la química y la biología de las aguas naturales. Desde una perspectiva biológica, el oxígeno disuelto, a menudo abreviado OD, es esencial para todas las formas de vida superiores en cuerpos de agua, y es por ello, que las agencias gubernamentales han establecido estándares de calidad del agua para niveles mínimos de OD en aguas superficiales para proteger la vida acuática. Desde una perspectiva química, el oxígeno es un indicador importante del estado redox de un cuerpo de agua. Es decir, si el oxígeno está presente, incluso en bajas concentraciones, otros elementos sensibles a la redox están presentes en sus formas oxidadas. Cuando está ausente, se produce una gama de formas reducidas de los elementos, pero el potencial redox exacto en el que comienzan a predominar varía entre los elementos. La química y la biología de las aguas naturales son, por lo tanto, dramáticamente diferentes dependiendo de si el oxígeno disuelto (OD) está presente o no.

Como se indicó anteriormente, el comportamiento del O_2 en las aguas naturales afecta fuertemente, y es afectado por, una amplia variedad de procesos químicos y biológicos. Además, las concentraciones de OD en las aguas superficiales están controladas por el proceso físico de transferencia del gas entre el agua y la atmósfera, así como por el proceso biológico de producción primaria de O_2 , y varios procesos químicos y biológicos que lo consumen (Brezonik & Arnold, 2011).

2.2.2. SOLUBILIDAD DEL OXÍGENO EN LA MATRIZ AGUA

El oxígeno es un compuesto gaseoso muy poco soluble en agua, cuya solubilidad depende de muchos factores como son la temperatura, la presión y la salinidad. En la tabla 1, se muestra la solubilidad de este gas en el agua a diferentes temperaturas y clorinidades, a una presión de 101,3 KPa (1 atm) (Baird, Eaton, & Rice, 2017).

Tabla 1. Solubilidad del Oxígeno en agua saturada de aire a diferentes temperaturas y clorinidades, a la presión atmosférica (101,3 KPa) (Baird, Eaton, & Rice, 2017)

Temperatura (°C)	Oxígeno Disuelto (mg O ₂ /L)					
	Clorinidad:0.0	5.0	10.0	15.0	20.0	25.0
0.0	14.621	13.728	12.888	12.097	11.355	10.657
1.0	14.216	13.356	12.545	11.783	11.066	10.392
2.0	13.829	13.000	12.218	11.483	10.790	10.139
3.0	13.460	12.660	11.906	11.195	10.526	9.897
4.0	13.107	12.335	11.607	10.920	10.273	9.664
5.0	12.770	12.024	11.320	10.656	10.031	9.441
6.0	12.447	11.727	11.046	10.404	9.799	9.228
7.0	12.139	11.442	10.783	10.162	9.576	9.023
8.0	11.843	11.169	10.531	9.930	9.362	8.826
9.0	11.559	10.907	10.290	9.707	9.156	8.636
10.0	11.288	10.656	10.058	9.493	8.959	8.454
11.0	11.027	10.415	9.835	9.287	8.769	8.279
12.0	10.777	10.183	9.621	9.089	8.586	8.111
13.0	10.537	9.961	9.416	8.899	8.411	7.949
14.0	10.306	9.747	9.218	8.716	8.242	7.792
15.0	10.084	9.541	9.027	8.540	8.079	7.642
16.0	9.870	9.334	8.844	8.370	7.922	7.496
17.0	9.665	9.153	8.667	8.207	7.770	7.356
18.0	9.467	8.969	8.497	8.049	7.624	7.221

19.0	9.276	8.792	8.333	7.896	7.483	7.090
20.0	9.092	8.621	8.174	7.749	7.346	6.964
21.0	8.915	8.456	8.021	7.607	7.214	6.842
22.0	8.743	8.297	7.873	7.470	7.087	6.723
23.0	8.578	8.143	7.730	7.337	6.963	6.609
24.0	8.418	7.994	7.591	7.208	6.844	6.498
25.0	8.263	7.850	7.457	7.083	6.728	6.390
26.0	8.113	7.711	7.327	6.962	6.615	6.285
27.0	7.968	7.575	7.201	6.845	6.506	6.184
28.0	7.827	7.444	7.079	6.731	6.400	6.085
29.0	7.691	7.317	6.961	6.621	6.297	5.990
30.0	7.559	7.194	6.845	6.513	6.197	5.896
31.0	7.430	7.073	6.733	6.409	6.100	5.806
32.0	7.305	6,957	6.624	6.307	6.005	5.717
33.0	7.183	6.843	6.518	6.208	5.912	5.631
34.0	7,065	6.732	6.415	6.111	5.822	5.546
35.0	6.950	6.624	6.314	6.017	5.734	5.464
36.0	6.837	6.519	6.215	5.925	5.648	5.384
37.0	6.727	6.416	6.119	5.835	5.564	5.305
38.0	6.620	6.316	6.025	5.747	5.481	5.228
39.0	6.515	6.217	5.932	5.660	5.400	5.152
40.0	6.412	6.121	5.842	5.576	5.321	5.078
41.0	6.312	6.026	5.753	5.493	5.243	5.005
42.0	6.213	5.934	5.667	5.411	5.167	4.933
43.0	6.116	5.843	5.581	5.331	5.091	4.862
44.0	6.021	5.753	5.497	5.252	5.017	4.793
45.0	5.927	5.665	5.414	5.174	4.944	4.724

46.0	5.835	5.578	5.333	5.097	4.872	4.656
47.0	5.744	5.493	5.252	5.021	4.801	4.589
48.0	5.654	5.408	5.172	4.947	4.730	4.523
49.0	5.565	5.324	5.094	4.872	4.660	4.457
50.0	5.477	5.242	5.016	4.799	4.591	4.392

Los datos de solubilidad de oxígeno en agua mostrados en la tabla 1. se pueden relacionar con la temperatura y la clorinidad, mediante la siguiente ecuación.

$$\ln K = A + \frac{B}{T} - \frac{C}{T^2} + \frac{D}{T^3} - \frac{E}{T^4} - Z \left[F - \left(\frac{G}{T} \right) + \left(\frac{H}{T^2} \right) \right] \quad (1)$$

Donde A, B, C, D, E, F, G y H son constantes con los siguientes valores:

$$A = -139.34411$$

$$B = 1.575701 \times 10^5$$

$$C = 6.642308 \times 10^7$$

$$D = 1.243800 \times 10^{10}$$

$$E = 8.621949 \times 10^{11}$$

$$F = 3.1929 \times 10^{-2}$$

$$G = 1.9428 \times 10^1$$

$$H = 3.8673 \times 10^3$$

Z : Es la clorinidad^(a).

K : es la concentración de oxígeno en equilibrio (mg O₂/L) a 101.3 KPa

y T : es la temperatura en Kelvin.

Cuando se quiere expresar la concentración de oxígeno en equilibrio en función de la salinidad, el término $-Z \left[F - \left(\frac{G}{T} \right) + \left(\frac{H}{T^2} \right) \right]$ de la ecuación **(1)** debe ser reemplazado por el siguiente:

$$-S \left[1.7674 \times 10^{-2} - \frac{1.0754 \times 10^1}{T} + \frac{2.1407 \times 10^3}{T^2} \right]$$

Donde S : es la Salinidad.

Para condiciones no estándares de presión:

$$C_p = KP \left[\frac{\left(1 - \frac{P_{WV}}{P}\right)(1 - \theta P)}{(1 - P_{WV})(1 - \theta)} \right] \quad (2)$$

Donde:

C_p : es igual a la concentración de oxígeno (mg O₂/L) a la presión no estándar P .

K : es la concentración de oxígeno a la presión estándar de 101,3 KPa (1 atm)

P : es la presión no estándar en atm.

θ : viene dada por la siguiente ecuación:

$$\theta = 0.000975 - 1.426 \times 10^{-5}t + 6.436 \times 10^{-8}t^2 \quad (3)$$

Donde:

t : es la temperatura en °C

P_{WV} : Es la presión parcial del vapor de agua en atm, calculada desde la siguiente ecuación:

$$\ln P_{WV} = 11.8571 - \frac{3840.70}{T} - \frac{216961}{T^2} \quad (4)$$

Donde:

T : es la temperatura en Kelvin. (Baird et al., 2017)

2.2.2.1. CLORINIDAD

La clorinidad se relaciona con la salinidad mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Salinidad} = 1.80655 \times \text{Clorinidad} \quad (5)$$

Aunque la clorinidad no es equivalente a la concentración de cloruros, el factor para convertir una concentración de cloruros en el agua de mar para incluir bromuro, por ejemplo, es solo 1.0045 (basado en los pesos moleculares relativos y las cantidades de los dos iones). Por lo tanto, para fines prácticos, la concentración de cloruro (en g / kg de solución) es casi igual a la clorinidad en el agua de mar. Para las aguas residuales, es necesario conocer los iones responsables de la conductividad eléctrica de la solución para corregir su efecto sobre la solubilidad del oxígeno y el uso del valor tabular. Si esto no se hace, la ecuación es inapropiada a menos que la composición relativa de las aguas residuales sea similar a la del agua de mar (Baird et al., 2017).

2.2.2.2. SALINIDAD

Aunque la salinidad se ha definido tradicionalmente como los sólidos totales en el agua después de que todos los carbonatos se han convertido en óxidos, todo los iones bromuros y yoduros se han reemplazado por cloruros, y toda la materia orgánica se ha oxidado, la nueva escala utilizada para definir la salinidad se basa en la Conductividad eléctrica del agua de mar en relación con una solución específica de KCl en agua. cuya escala es adimensional (Baird et al., 2017).

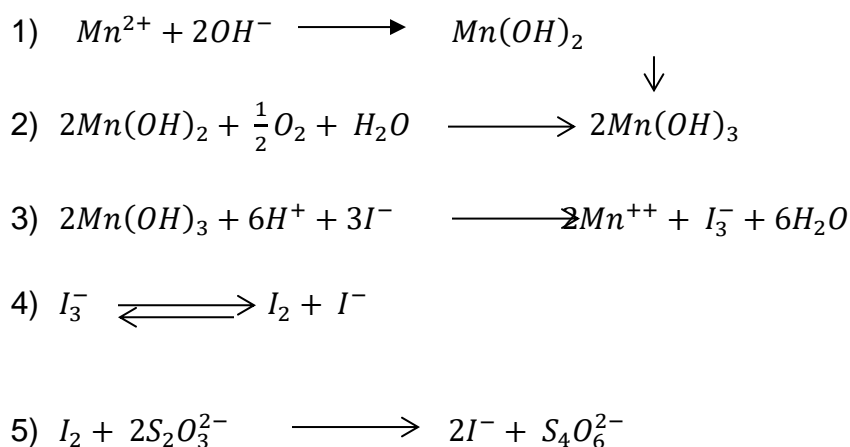
2.2.3. MÉTODOS DE ANÁLISIS PARA LA DETERMINACIÓN DE OXÍGENO DISUELTO EN AGUAS

El oxígeno molecular disuelto en las aguas naturales y residuales, puede ser determinado principalmente por dos métodos de análisis, que son: el método Iodométrico Winkler modificación de Azida y el método electrodo de membrana.

2.2.3.1. MÉTODO IODOMÉTRICO WINKLER – MODIFICACIÓN DE AZIDA

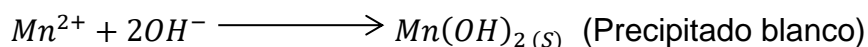
La prueba iodométrica es el procedimiento titulométrico más preciso y confiable para el análisis de Oxígeno Disuelto. Se basa en la adición de una solución de manganeso divalente, seguida de un álcali fuerte, a la muestra contenida en una botella de forma especificada (botella Winkler) con tapón de vidrio. El Oxígeno disuelto presente en la muestra oxida rápidamente una cantidad equivalente del precipitado de hidróxido manganeso divalente dispersado a hidróxido mangánico trivalente. En presencia de iones yoduro en una solución ácida, el manganeso oxidado vuelve al estado divalente, con la liberación de yodo equivalente al contenido original de Oxígeno Disuelto. El yodo se titula a continuación con una solución patrón de tiosulfato. El punto final de la titulación puede ser detectado visualmente, usando almidón como indicador (Baird et al., 2017).

Las reacciones involucradas en la determinación Iodométrica del oxígeno molecular disuelto se muestran a continuación:

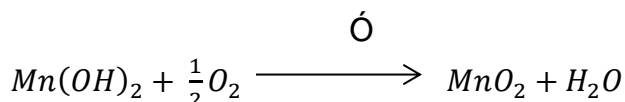
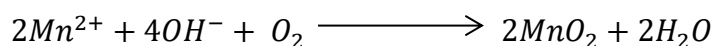


El método Winkler sin modificación está sujeto a interferencias debido a un gran número de sustancias. Ciertos agentes oxidantes tales como los nitritos (NO_2^{-}) y los iones férricos (Fe^{3+}) son capaces de oxidar al ion yoduro (I^{-}) a yodo (I_2) produciendo así falsos positivos en la determinación de oxígeno disuelto. Los agentes reductores tales como (Fe^{2+}), (SO_3^{2-}), (S^{2-}) y politionatos, reducen el I_2 a I^{-} produciendo falsos negativos en la determinación de oxígeno disuelto. El método Winkler sin modificación es aplicable solo a aguas relativamente puras.

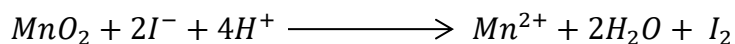
Las reacciones involucradas en el procedimiento Winkler son las siguientes:



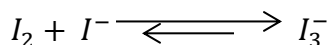
Si el oxígeno no está presente, un precipitado blanco puro de $Mn(OH)_2(s)$ se forma cuando el $(MnSO_4)$ y el reactivo álcali – yoduro ($NaOH - KI$) son añadidos a la muestra. Si el oxígeno está presente en la muestra, entonces algunos de los iones manganosos (Mn^{2+}) se oxidaran a (Mn^{4+}) y precipitaran como un oxido hidratado café. La reacción es usualmente representada como sigue:



La oxidación del ion manganoso (Mn^{2+}) a $MnO_2(s)$ algunas veces llamada fijación de oxígeno, ocurre lentamente, particularmente a bajas temperaturas. Además es necesario mover el material floculado a lo largo de toda la solución para permitir que todo el oxígeno reaccione. La agitación vigorosa de la muestra por 20 segundos es necesaria. En el caso de aguas salobres o de mar la agitación de la muestra se debe realizar por más tiempo. Después de la agitación de la muestra por un tiempo suficiente para que todo el oxígeno reaccione, el floc se deja sedimentar de tal forma que se observen 5 cm de agua clara por encima de la botella. Entonces el ácido sulfúrico es añadido. Bajo las condiciones de pH bajo que resultan, el MnO_2 oxida el ion yoduro (I^{-}) para producir yodo (I_2).

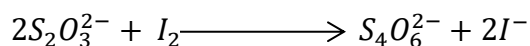


El yodo es bastante insoluble en agua, pero forma un complejo con el exceso de yoduro presente para formar mediante una reacción reversible el complejo triyoduro (I_3^{-}) que es más soluble, esto previene el escape de yodo de la solución (Sawyer, McCarty, & Parkin, 2002).



El yoduro de sodio o potasio es suficientemente concentrado para disminuir la cantidad de yodo libre al 5% del yodo total en la muestra de agua saturada con aire. Esto incrementa el complejo de yodo como ion triyoduro lo cual da lugar a puntos finales más agudos y reduce perdida de yodo por volatilización.

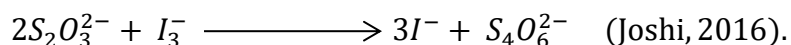
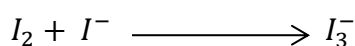
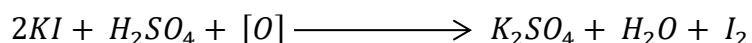
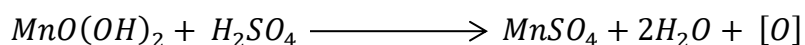
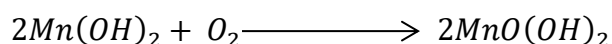
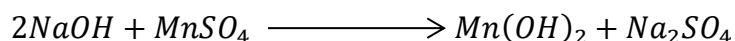
El oxígeno de la muestra se determina por titulación con tiosulfato 0,025N. El uso de tiosulfato 0,025 N está fundamentado por la premisa de que se titulan 200 mL de muestra.



En la adición de los reactivos usados para la prueba winkler, ocurre una pequeña dilución de la muestra. Por lo tanto, es necesario tomar una alícuota mayor a 200 mL para la titulación. Cuando los 300 mL de la botella son usados, se adicionan 1 mL de solución de $MnSO_4$ y 1 mL de alcali – yoduro. Estos son añadidos de tal manera que ocurre un desplazamiento de la muestra de aproximadamente 2 mL, y por tanto, es necesario hacer una corrección. Cuando se añade 1 mL de ácido, la cantidad de floc desplazado es cero, debido a que este se precipita antes de adicionar el ácido, por tanto no es necesario hacer una corrección por la adición del ácido a la muestra. Para corregir la adición de los dos primeros reactivos, se deben tomar 201 mL de la muestra tratada para realizar la titulación.

La titulación de una muestra de un tamaño equivalente a 200 mL de la muestra original con solución de tiosulfato 0,025N produce resultados en mL, que pueden ser interpretados directamente en términos de mg/L de oxígeno disuelto (Sawyer et al., 2002).

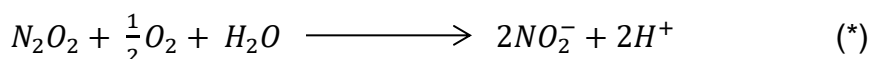
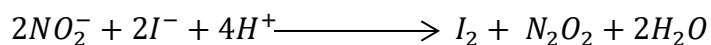
Las ecuaciones químicas mostradas anteriormente se pueden representar en su forma no iónica de la siguiente manera:



El ion nitrito es una de las interferencias más frecuentes encontradas en la determinación de oxígeno disuelto. Ocurre principalmente en efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales empleando procesos biológicos, en aguas de río y en muestras de DBO incubadas. El ion nitrito no oxida al ion manganeso, pero oxida el ion yoduro (I^-) a yodo (I_2) bajo condiciones ácidas. Esto es particularmente molesto porque la forma reducida, N_2O_2 , es oxidada por el oxígeno, que entra a la muestra durante el procedimiento de titulación y es convertido a nitrito nuevamente,

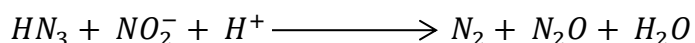
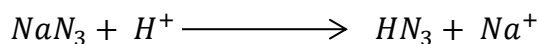
estableciéndose una reacción cíclica que puede traer resultados erróneamente altos.

Las reacciones involucradas se representan como sigue:



Cuando la presencia de nitrito está presente, es imposible obtener un punto final permanente. Tan pronto como el color azul del indicador de almidón ha desaparecido, el nitrito formado por la reacción (*) reaccionará con más yoduro para producir yodo y el color azul del indicador de almidón regresará.

La interferencia de nitrito se puede superar fácilmente usando azida de sodio (NaN_3). Es conveniente involucrar la azida de sodio en el reactivo Alkali – KI. Cuando el ácido sulfúrico es adicionado, las siguientes reacciones ocurren y el nitrito es destruido.



Por este método, la interferencia de nitritos es eliminada y el método de determinación retiene la simplicidad del procedimiento Winkler original (Sawyer et al., 2002).

2.2.3.2. MÉTODO ELECTRODO DE MEMBRANA.

Los electrodos de membrana polarográfica o galvánica sensibles al oxígeno están compuestos por dos electrodos metálicos en contacto con una solución electrolítica, separada de la solución de prueba o muestra por una membrana selectiva (membrana permeable solo al oxígeno). La diferencia básica entre los sistemas galvánico y polarográfico es que en el primero la reacción del electrodo es espontánea (similar a la de una celda de combustible), mientras que el último requiere una fuente externa de voltaje aplicado para polarizar el electrodo indicador.

Las membranas de polietileno y fluorocarbono se usan comúnmente porque son permeables al oxígeno molecular y son relativamente resistentes.

Los electrodos de membrana están disponibles comercialmente. En todos estos instrumentos, la "corriente de difusión" es linealmente proporcional a la concentración de oxígeno molecular. La corriente medida se puede convertir fácilmente en unidades de concentración (por ejemplo, mg / L) mediante una serie de procedimientos de calibración. Los electrodos de membrana tienen un coeficiente de temperatura relativamente alto debido en gran parte a los cambios en la permeabilidad de la membrana. El efecto de la temperatura sobre la sensibilidad del electrodo, \emptyset ($\mu\text{A}/\text{mg/L}$), puede ser expresado mediante la siguiente ecuación simplificada:

$$\log \emptyset = 0.43mt + b \quad (6)$$

Donde:

m es una constante que depende del material de la membrana.

t es la temperatura en $^{\circ}\text{C}$.

b es una Constante que depende en gran medida del grosor de la membrana.

Si los valores de \emptyset y m se determinan para una temperatura (\emptyset_0 y t_0) la sensibilidad a cualquier temperatura deseada (\emptyset y t) pueden ser calculadas como sigue:

$$\log \emptyset = \log \emptyset_0 + 0.43m(t - t_0) \quad (7)$$

Los gráficos monográficos para la corrección de la temperatura se pueden construir fácilmente y se encuentran disponibles por algunos fabricantes. En la actualidad, los electrodos usados para determinar el oxígeno disuelto tienen acoplados termistores que pueden proporcionar compensación de temperatura automáticamente, por lo cual no es necesario realizar dicha corrección.

Para utilizar el método de electrodo de membrana de OD en aguas de zonas estuarinas, aguas marinas o en aguas residuales de algunas industrias, las cuales tienen una elevada fuerza iónica variable, se debe corregir el efecto de la salinidad sobre la sensibilidad del electrodo. Este efecto es particularmente significativo para grandes cambios en el contenido salino de las aguas. La sensibilidad del electrodo varía con la concentración salina de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\log \emptyset_s = 0.43m_s C_s + \log \emptyset_0 \quad (8)$$

Donde:

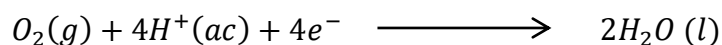
\emptyset_s y \emptyset_0 son las sensibilidades en solución salina y agua destilada respectivamente.

m_s es una constante (coeficiente de salinidad)

C_s es la concentración salina (preferiblemente fuerza iónica)

Si ϕ_0 y m_s son determinados, entonces la sensibilidad para cualquier valor de C_s puede ser calculada. Las mediciones de conductividad pueden ser usadas para aproximar la concentración salina. Esto es particularmente aplicable para aguas de zonas estuarinas, aguas marinas o en aguas residuales de algunas industrias (Baird et al., 2017).

La voltametría se refiere a los métodos en los que el potencial de un electrodo de trabajo se controla con relación a un electrodo de referencia, y se mide la corriente resultante. Esta corriente se debe a la oxidación o reducción de un soluto. La magnitud de la corriente está relacionada con la concentración de soluto. La voltametría se puede implementar directamente en muestras acuosas que, por lo tanto, se pueden usar para la detección continua. En la práctica, tales aplicaciones son pocas. El único requisito es que la solución acuosa contenga suficientes sales disueltas para ser eléctricamente conductora. En la práctica, la voltametría no se usa ampliamente para la detección química continua. Un problema es que la mayoría de las muestras complejas con las que tratamos en contextos prácticos contienen componentes que se depositan en la superficie del electrodo. Esto bloquea la superficie del electrodo, reduciendo su área efectiva. Como la corriente es proporcional al área del electrodo, esto causa una interferencia. El resultado es que la voltametría requiere un mantenimiento frecuente de los electrodos hasta el punto en que generalmente se considera poco práctico. Un segundo problema es que a menudo es difícil encontrar un potencial en el que el analito de interés se pueda oxidar o reducir sin oxidar o reducir también otros solutos. Hay dos estrategias que han conducido a una detección voltamétrica exitosa. Una es determinar los gases que pueden oxidarse o reducirse utilizando una membrana para proteger los electrodos. Con mucho, la aplicación más importante implica la medición de oxígeno disuelto. El electrodo de oxígeno voltamétrico se muestra en la Figura 1. El electrodo voltamétrico está separado de la muestra analítica por una membrana que es permeable a los gases pero no a la solución. Esto elimina las interferencias de todos los solutos no volátiles. La membrana más común es el teflón, una sustancia que no se adhiere fuertemente a nada. Como resultado, el electrodo de oxígeno disuelto no está sujeto a ensuciamiento por los solutos en la muestra de interés. El electrodo de oxígeno disuelto se conoce a veces como electrodo de Clark, por su inventor, Leland Clark. Hay una capa delgada de una solución salina entre la membrana y el electrodo. Esto es necesario para que el potencial del electrodo de trabajo pueda controlarse con relación al potencial de un electrodo de referencia. Esta tensión se mantiene en un valor suficientemente negativo para reducir el oxígeno disuelto en agua según la siguiente reacción:



La corriente resultante de dicha reacción depende de la concentración de oxígeno disuelto.

El electrodo de oxígeno funciona en modo de estado estable. El potencial del electrodo se mantiene un valor suficientemente negativo para reducir todo el oxígeno en la superficie del electrodo. Esto crea un gradiente de concentración. El oxígeno de la muestra se difunde a través de la membrana y la capa de solución delgada para alcanzar la superficie de electrodo de trabajo donde se reduce. Si la muestra se agita, la muestra será homogénea y la concentración de oxígeno en la superficie de la membrana se mantendrá esencialmente constante. Si bien el oxígeno que se reduce en la superficie del electrodo de trabajo reduce la concentración de la solución, esta cantidad de oxígeno que se reduce es un pequeño porcentaje de la cantidad total de oxígeno, por lo que los cambios de concentración son demasiado pequeños para tener un efecto significativo en la concentración de oxígeno (Kutz, 2016).

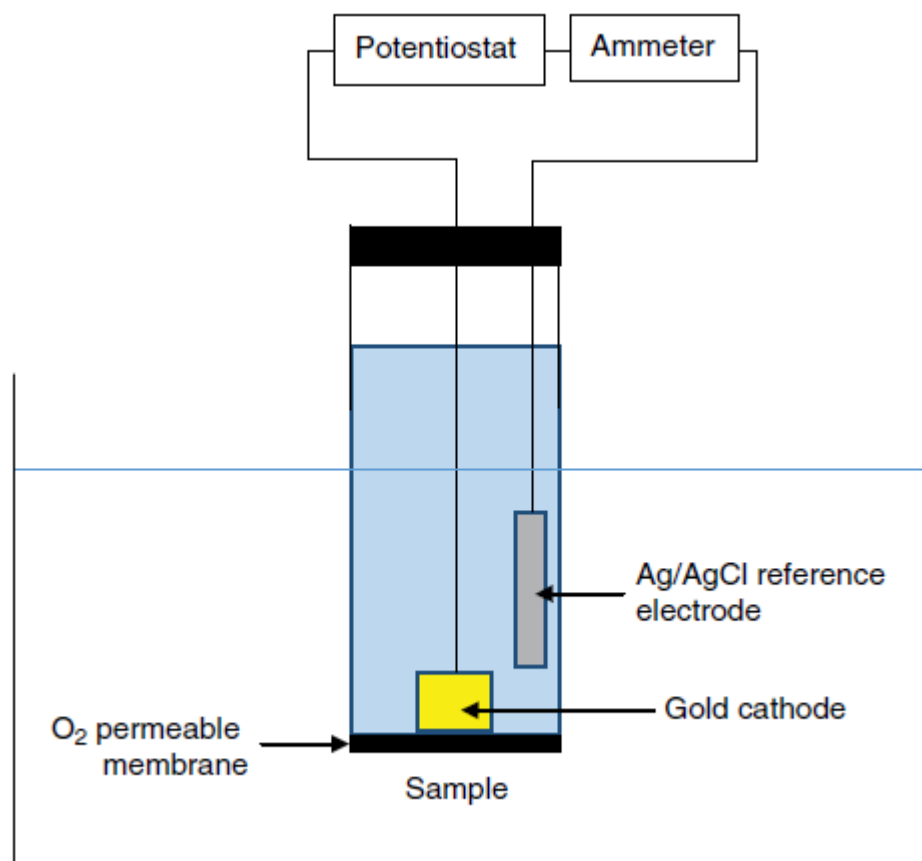


Figura 1. Esquema del electrodo voltamétrico de oxígeno.

Tomado de: Handbook of Measurement in Science and Engineering (Edición: 1)

El parámetro medido es la corriente debida a la reducción de oxígeno en el cátodo de oro. El potencial de este electrodo es controlado por el potencióstato a un valor suficientemente catódico en relación con el electrodo de referencia de plata / cloruro de plata para reducir el oxígeno. (Kutz, 2016)

2.2.4. MÉTODO DE ANÁLISIS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO.

2.2.4.1. MÉTODO PRUEBA DE LOS CINCO DÍAS.

La prueba de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) es una medida de la cantidad de oxígeno requerido por los microorganismos para oxidar los constituyentes orgánicos biodegradables presentes en las aguas naturales, aguas residuales, los efluentes y las aguas contaminadas (Nielsen, 2017) (Kutz, 2018).

Su aplicación más amplia es la medición de la carga de desechos en las plantas de tratamiento y la evaluación de la eficiencia de la remoción de materia orgánica de las plantas de tratamiento de aguas residuales. La prueba de la DBO mide el oxígeno molecular utilizado durante un período de incubación específico para:

- degradar bioquímicamente los constituyentes orgánicos (demanda Carbonácea),
- oxidar algunos constituyentes inorgánicos (por ejemplo, sulfuros e hierro ferroso), y / o,
- medir la cantidad de oxígeno requerido para oxidar formas reducidas del nitrógeno (demanda nitrogenácea) a menos que se agregue un inhibidor para evitar dicha reducción.

La prueba de Demanda bioquímica de oxígeno (DBO) es una medida indirecta de la materia orgánica presente en una muestra; mide el cambio en la concentración de Oxígeno disuelto causada por microorganismos a medida que degradan la materia orgánica en una muestra contenida en una botella tapada (Botella winkler) incubada durante 5 días en la oscuridad a 20 °C. Los analistas miden el Oxígeno disuelto antes y después de la incubación, y calculan la DBO utilizando la diferencia entre las mediciones de Oxígeno disuelto (OD) (Baird et al., 2017).

Varios factores (como, por Ejemplo., compuestos orgánicos solubles frente a compuestos orgánicos particulados, sólidos sedimentables y flotantes, oxidación de compuestos de hierro y azufre y falta de mezcla) pueden afectar la precisión y exactitud de las mediciones de DBO. Actualmente, no hay ajustes efectivos o correcciones para compensar estos factores.

Los microorganismos pueden oxidar formas reducidas de nitrógeno, como el amoníaco y el nitrógeno orgánico, ejerciendo así una demanda de nitrógeno.

Históricamente, la demanda nitrogenácea se ha considerado una interferencia en las pruebas de DBO; la adición de amoníaco al agua de dilución contribuye a una fuente externa de demanda de nitrógeno.

La interferencia de la demanda nitrogenácea ahora puede prevenirse mediante el uso de sustancias químicas inhibidoras, pero si no se utilizan, la demanda medida de oxígeno es la suma de las demandas Carbonácea y nitrogenácea.

Las mediciones que incluyen la demanda de nitrógeno generalmente no son útiles para evaluar la demanda de oxígeno asociada con el material orgánico. La demanda nitrogenácea puede estimarse directamente a partir del nitrógeno amoniacal, y la demanda Carbonácea puede estimarse restando el equivalente teórico del nitrito y el nitrato producidos en resultados de prueba no inhibidos. Sin embargo, este método es engorroso y está sujeto a un error considerable. La inhibición química de la demanda nitrogenácea proporciona una medida más directa y confiable de la demanda Carbonácea (Baird et al., 2017).

2.3. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS.

La validación de métodos es un requisito importante en la práctica de los análisis químicos. Si bien la mayoría de los químicos analíticos son conscientes de ello, no siempre está claro por qué y cuándo debe realizarse y que es necesario hacer. Algunos consideran que la validación de métodos debe realizarse en colaboración con otros laboratorios, por lo que no la llevan a cabo. Los requisitos de las normas ISO/IEC 17025, ISO 15189 e ISO 15195 han ayudado a clarificar este tema. (Eurachem, 2014) Por ejemplo, la necesidad de demostrar que los métodos deben adecuarse a su uso previsto se indica claramente en el apartado 5.4.2 de la ISO/IEC 17025:

“El laboratorio debe utilizar los métodos de ensayo o de calibración, incluidos los de muestreo, que satisfagan las necesidades del cliente y que sean apropiados para los ensayos o las calibraciones que realiza...” y además: “Cuando el cliente no especifique el método a utilizar, el laboratorio debe seleccionar los métodos apropiados...”.

Validar un método es básicamente el proceso para definir un requisito analítico, y la confirmación de que cuenta con capacidades consistentes con las aplicaciones requeridas. Inherente a esto está la necesidad de evaluar el desempeño del método. Es importante la valoración de la idoneidad del método; en el pasado la validación del método se centraba solo en la evaluación de las características de desempeño (Eurachem, 2014).

En la tabla 2. Se muestra la definición de validación, según tres normas internacionales.

Tabla 2. Definiciones del concepto de “Validación” en ISO 9000, ISO/IEC 17025 y VIM.

Definición	Referencia
Confirmación, a través de la aportación de evidencia objetiva, de que se han cumplido los requisitos para un uso o aplicación específico previsto.	ISO 9000
Confirmación, a través del examen y aportación de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto.	ISO/IEC 17025
Verificación, donde los requisitos especificados son adecuados para un uso previsto.	VIM

Para la validación de un método analítico, sabiendo que se trata de un método normalizado se determinan por lo general los siguientes criterios de calidad.

- Límite de detección del método
- Límite de cuantificación del método
- Intervalo de Trabajo
- Precisión
- Exactitud
- Incertidumbre de la medición.

2.3.1. LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO.

Debido a que no existe un acuerdo universal sobre la terminología y existen varios criterios para cuantificar (aunque no necesariamente dentro de un límite declarado de aceptación) cuál es la concentración del analito, el laboratorio adopta la utilización del límite de detección del método (LDM), como la concentración de analito que, cuando se procesa a través del método completo, produce una señal con una probabilidad del 99% de ser diferente del blanco (Arnold Guardo, 2018).

$$LDM = \overline{C_{EC}} + t_{n-1} * S \quad (9)$$

LDM: límite de detección del método.

$\overline{C_{EC}}$: Concentración promedio del estándar analizado.

S: Desviación estándar del patrón analizado

t_{n-1} : Se selecciona a partir de una tabla de distribución desigual para n-1 grados de libertad y un nivel de confianza del 99% (Jhon Restrepo, 2016).

2.3.2. LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO.

El límite de cuantificación es el nivel más bajo del analito que puede determinarse con un rendimiento aceptable. ('Un rendimiento aceptable' es considerado diversamente por diferentes directrices para incluir precisión y veracidad, o la incertidumbre de medición). En la práctica, sin embargo, LC se calcula por la mayoría de las convenciones siendo la concentración del analito correspondiente a la desviación estándar obtenida (S_b) en niveles bajos, multiplicado por un factor, K_Q . El valor predeterminado de la IUPAC para K_Q es 10 y si la desviación estándar es aproximadamente constante a bajas concentraciones de este multiplicador corresponde a una desviación estándar relativa (RSD) del 10%. Multiplicadores de 5 y 6 veces también han sido utilizados, que corresponde a los valores de RSD de 20% y 17%, respectivamente (Never Hernandez, 2018) (Eurachem, 2014).

2.3.3. INTERVALO DE TRABAJO.

El intervalo de trabajo es el Intervalo de concentración donde actúa el método en cuestión, sin ninguna dilución. (Coy Gustavo, 2006) este parámetro también se define como el intervalo entre la concentración superior e inferior para las cuales se ha demostrado la correcta precisión, exactitud y linealidad del método (AEFI, 2001).

2.3.4. PRECISIÓN.

La precisión describe cuán reproducibles son las mediciones de un análisis; en otras palabras, describe cuánto se repite el resultado de dos o más mediciones cuando dichas mediciones han sido llevadas a cabo exactamente de la misma manera. Por lo general, para calcular de manera sencilla la precisión de una medición se debe repetir dicha medición en un conjunto de muestras réplica. Existen tres términos ampliamente utilizados para describir la precisión de los datos en un conjunto de réplicas: la **desviación estándar**, la **varianza** y el **coeficiente de variación**, las cuales son una medida de cuánto se aleja un resultado individual x_i de la media (Skoog, 2017).

La precisión es un parámetro estadístico que puede ser expresado en una validación en términos de repetibilidad y reproducibilidad.

2.3.4.1. REPETIBILIDAD.

Es la precisión bajo condiciones donde los resultados de análisis independientes se obtienen con el mismo método en ítems de análisis idénticos en el mismo laboratorio por el mismo operador utilizando el mismo equipamiento dentro de intervalos cortos de tiempo. Se puede determinar registrando a los menos 6 mediciones bajo las mismas condiciones (mismo operador, mismo aparato, mismo laboratorio y en corto intervalo de tiempo) de un analito en un material de referencia (Juan Jácome, 2014).

2.3.4.2. REPRODUCIBILIDAD.

Grado de concordancia entre los resultados de mediciones del mismo mensurado efectuadas bajo condiciones de medición modificadas. Es el caso al realizar diversas réplicas en diversos días cambiando instrumento, analista e incluso el laboratorio.

La precisión de un método analítico se expresa como el coeficiente de variación (CV) de una serie de medidas y se calcula matemáticamente como la siguiente ecuación:

$$\%CV = \frac{s}{\bar{x}} * 100 \quad (10)$$

Dónde:

S: Desviación estándar

\bar{X} : Media aritmética de los resultados. (Jhon Restrepo, 2016)

2.3.5. EXACTITUD

Según la organización internacional de estándares (ISO) la exactitud se define como el grado de concordancia entre el resultado de un ensayo y el valor de referencia aceptado del analito (Miller & Miller, 2002).

La exactitud se expresa en términos de porcentaje de error (%E) y/o como porcentaje de recuperación (%R) (Jhon Restrepo, 2016).

Porcentaje de error:

$$\%E = \frac{|(\text{valor Experimental} - \text{valor Teórico})|}{\text{valor Teórico}} * 100 \quad (11)$$

Porcentaje de recuperación:

$$\%R = \frac{C_{MA} - \bar{C}_M}{C_A} * 100 \quad (12)$$

Donde:

C_{MA} : Concentración de la muestra más el patrón añadido.

C_M : Concentración inicial de la muestra.

C_A : Concentración del patrón añadido.

La recuperación hace referencia a la fracción de la sustancia agregada a la muestra (muestra fortificada) antes del análisis, al ser analizadas muestras fortificadas y sin fortificar. La recuperación permite ver el rendimiento de un método analítico en cuanto al proceso de extracción y la cantidad del analito existente en la muestra original. Por lo cual, la recuperación esta intrínsecamente relacionada a las características de la matriz de la muestra (Arias Luisa, 2014).

2.3.6. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN DE PARÁMETROS DE DESEMPEÑO

Con el propósito de establecer si nuestro método tiene la capacidad de ser exacto y preciso existen ciertos criterios de aceptación que nos van a permitir establecer si nuestros resultados son aceptables o no lo son. Estos criterios pueden variar de método a método dependiendo de su aplicación.

En vista de que la exactitud puede ser descrita en términos de error relativo y porcentaje de recuperación así como la precisión puede ser expresada o estudiada mediante el análisis de desviación estándar y coeficiente de variación. El propósito está en comparar los valores de los parámetros obtenidos y establecer si son aceptables (Jhon Restrepo, 2016). A continuación se puede apreciar según la Association of Oficial Analytical Chemists (AOAC) una tabla donde se ven algunos criterios de aceptación que permiten guiarnos en la estimación del porcentaje de recuperación teniendo en cuenta la concentración del analito así como también una tabla que nos muestra una serie de valores límites de coeficiente de variación en función de la concentración de analito.

Tabla 3. Valores aceptables según la AOAC para el factor de recuperación en función de la concentración del analito.

% Analito	Relación	Unidades	Factor de recuperación (%)
100	1	100 %	98% - 102%
10	10^{-1}	10 %	98% - 102%
1	10^{-2}	1 %	97% - 103%
0,1	10^{-3}	0,1 %	95% - 105%
0,01	10^{-4}	100 ppm	90% - 107%
0,001	10^{-5}	10 ppm	80% - 110%
0,0001	10^{-6}	1 ppm	80% - 110%
0,00001	10^{-7}	100 ppb	80% - 110%
0,000001	10^{-8}	10 ppb	60% - 115%
0,0000001	10^{-9}	1 ppb	40% - 120%

Tabla 4. Límites del coeficiente de variación para el análisis de trazas en función de la concentración de analito.

% Analito	Relación	Unidades	%CV
10	10^{-1}	10 %	2,8
1	10^{-2}	1 %	2,7
0,1	10^{-3}	0,1 %	3,7
0,01	10^{-4}	100 ppm	5,3
0,001	10^{-5}	10 ppm	7,3
0,0001	10^{-6}	1 ppm	11
0,00001	10^{-7}	100 ppb	15
0,000001	10^{-8}	10 ppb	21
0,0000001	10^{-9}	1 ppb	30

2.3.7. INCERTIDUMBRE

La incertidumbre se puede definir como un Parámetro asociado al resultado de una medida, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mensurando. El parámetro puede ser, por ejemplo, una desviación estándar (o un múltiplo de ésta) o la semiamplitud de un intervalo con un nivel de confianza determinado. La incertidumbre de medida comprende, en general, varios componentes. Algunos pueden ser evaluados a partir de la distribución estadística de los resultados de series de mediciones, y pueden caracterizarse por sus Desviaciones estándar experimentales. Los otros componentes, que también pueden ser caracterizados por desviaciones estándar, se evalúan asumiendo distribuciones de probabilidad, basadas en la experiencia adquirida o en otras informaciones. Se entiende que el resultado de la medición es la mejor estimación del valor del mensurando, y que todos los componentes de la incertidumbre, comprendidos los que provienen de efectos sistemáticos, tales como los componentes asociados a las correcciones y a los patrones de referencia, contribuyen a la dispersión. La definición de incertidumbre dada anteriormente se centra en el rango de valores que el analista cree que puede ser atribuido razonablemente al mensurando. De forma general, la palabra incertidumbre está relacionada con el concepto general de duda. La Incertidumbre de medida no

implica duda sobre la validez de una medida; al contrario, el conocimiento de la incertidumbre implica un aumento de la confianza en la validez del resultado de una medición (Eurachem, 2012).

Los tipos de incertidumbres se clasifican en:

- **Tipo A:** componentes que pueden ser evaluados a partir de distribuciones estadísticas de series de resultados que pueden caracterizarse por desviaciones estándar.
- **Tipo B:** pueden caracterizarse también por desviaciones estándar, pero se evalúan a partir de distribuciones de probabilidad supuestas, basadas en la experiencia o en otro tipo de información.
- **Incertidumbre combinada (A, B):** Se plantea cuando la magnitud a medir depende de otra o varias magnitudes (medidas indirectas), por lo que la incertidumbre de la variable a medir depende de la de otros parámetros ya que medido de forma directa o indirecta. Para que sea aplicable la teoría que va a exponerse, es necesario que todas las medidas se realicen con las mismas condiciones, por lo que debe utilizarse el mismo instrumento y escala para medir una magnitud dentro de todo el proceso experimental, igualmente en lo posible mantener las condiciones ambientales estables así como cualquier otro factor que pueda afectar la medición.
- **Incertidumbre expandida (U):** Proporciona un intervalo en el cual el valor de la medida es determinado con un alto nivel de confianza. (U) es obtenida por el producto de la incertidumbre estándar combinada con un factor de cobertura K. El valor del factor k está basado en el nivel de confianza requerido. Para un nivel de confianza aproximadamente del 95%, k es 2.

El factor de cobertura k, depende del nivel de confianza requerido para la mayoría de los propósitos se recomienda k igual 2. Sin embargo este valor puede ser insuficiente cuando la incertidumbre combinada está basada en observaciones estadísticas con pocos grados de libertad. La escogencia de este factor depende del número de grados de libertad efectivos.

La incertidumbre combinada está dada por la siguiente ecuación:

$$\frac{U_o}{C_i} = \sqrt{\left[\frac{U_a}{a}\right]^2 + \left[\frac{U_b}{b}\right]^2 + \left[\frac{U_c}{c}\right]^2 + \left[\frac{U_d}{d}\right]^2} \quad (13)$$

$$U_c = U * C \quad (14)$$

Donde:

$U_a, U_b, U_c \dots U_n$, corresponden a la incertidumbre o tolerancia de cada una de las fuentes involucradas en el cálculo de la incertidumbre $a, b, c \dots n$ corresponden a las magnitudes de dichas fuentes de incertidumbre y C_i corresponde a la concentración para la cual se está determinando la incertidumbre.

La incertidumbre expandida está dada por:

$$U = K * U_c \quad (15)$$

Donde:

K es el factor de cobertura y U_c es la incertidumbre combinada

2.3.7.1. PROCESO DE ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE

2.3.7.1.1. ESPECIFICACIÓN DEL MENSURANDO

Declaración clara de lo que se mide, incluyendo la relación entre el mensurando y las magnitudes de entrada (por ejemplo, cantidades medidas, constantes, los valores estándar de calibración, etc.) de los que depende. Donde sea posible, Se hace una expresión matemática cuantitativa del mensurando en función de los parámetros de los cuales depende (ecuación de cálculo del resultado), que puede incluir otros mensurandos, cantidades no medidas directamente, o constantes.

2.3.7.1.2. IDENTIFICACIÓN DE LAS FUENTES DE INCERTIDUMBRE

Una vez determinados el mensurando, el principio, el método y el procedimiento de medición, se identifican las posibles fuentes de incertidumbre. En términos prácticos para poder definir bien el mensurando es necesario realizar un listado de las magnitudes de influencia y fuentes de incertidumbre relevantes al método analítico

de medición. Este listado se puede representar gráficamente, y dicha representación procurará identificar las principales fuentes de incertidumbre disminuyendo el riesgo de omitir o discriminar estas, que sean importantes para la estimación de la incertidumbre. Para tal efecto es recomendable realizar un diagrama de causa y efecto (también conocidos como diagramas de Ishikawa o espina de pescado).

Las fuentes de incertidumbre provienen de los diversos factores involucrados en la medición, por ejemplo:

- Los resultados de la calibración del instrumento;
- La incertidumbre del patrón o del material de referencia;
- La repetibilidad de las lecturas;
- La reproducibilidad de las mediciones por cambio de observadores, instrumentos u otros elementos;
- Características del propio instrumento, como resolución, histéresis, deriva, etc.;
- Variaciones de las condiciones ambientales;
- La definición del propio mensurando;
- El modelo particular de la medición;
- Variaciones en las magnitudes de influencia.

No es recomendable desechar algunas de las fuentes de incertidumbre por la suposición de que es poco significativa sin una cuantificación previa de su contribución, comparada con las demás, apoyadas en mediciones. Es preferible la inclusión de un exceso de fuentes que ignorar algunas entre las cuales pudiera descartarse alguna importante (Jhon Restrepo, 2016).

2.3.7.1.3. CUANTIFICACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE

Se distinguen dos métodos principales para cuantificar las fuentes de incertidumbre: El método de evaluación tipo A está basado en un análisis estadístico de una serie de mediciones, mientras el método de evaluación tipo B comprende todas las demás maneras de estimar la incertidumbre (Jhon Restrepo, 2016).

Cabe anotar que esa clasificación no significa que exista alguna diferencia en la naturaleza de los componentes que resultan de cada uno de los dos tipos de evaluación, puesto que ambos tipos están basados en distribuciones de

probabilidad. La única diferencia es que en las evaluaciones tipo A se estima esta distribución basándose en mediciones repetidas obtenidas del mismo proceso de medición mientras en el caso de tipo B se supone una distribución con base en experiencias o información externa al metrólogo. En la práctica esta clasificación no tiene consecuencia alguna en las etapas para obtener una estimación de la incertidumbre combinada (Jhon Restrepo, 2016).

2.3.7.1.3.1. EVALUACIÓN TIPO A

La incertidumbre de una magnitud de entrada X_i obtenida a partir de mediciones repetidas bajo condiciones de repetibilidad, se estima con base en la dispersión de los resultados individuales.

Si X_i se determina por n mediciones independientes, resultando en valores q_1, q_2, \dots, q_n el mejor estimado x_i para el valor de X_i es la media de los resultados individuales:

$$x_i = \bar{q} = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n q_j \quad (16)$$

La dispersión de los resultados de la medición q_1, q_2, \dots, q_n para la magnitud X_i se expresa por su desviación estándar experimental de la medida:

$$s(q) = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (q_j - \bar{q})^2} \quad (17)$$

La incertidumbre estándar $u(x_i)$. De X_i se obtiene finalmente mediante el cálculo de la desviación estándar experimental de la medida:

$$u(x_i) = s(\bar{q}) = \frac{s(q)}{\sqrt{n}} \quad (18)$$

Así que resulta para la incertidumbre estándar de X_i .

$$u(x_i) = \frac{1}{\sqrt{n}} \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{k=1}^n (q_k - \bar{q})^2} \quad (19)$$

Para una medición que se realiza por un método bien caracterizado y bajo condiciones controladas, es razonable suponer que la distribución de los q_j no cambia, o sea se mantiene prácticamente igual para mediciones realizadas en diferentes días, por distintos analistas, entre otras variaciones, lo que quiere decir que la medición está bajo control estadístico. En este caso esta componente de incertidumbre puede ser más confiablemente estimada con la desviación estándar s_p obtenida de un solo experimento, que con la desviación estándar experimental $s(q)$ obtenida por un número de medidas, casi siempre pequeño.

La incertidumbre estándar de la medida se estima en este caso por:

$$u(x_i) = \frac{s_p}{\sqrt{n}} \quad (20)$$

Cabe señalar que n es el número de mediciones repetidas para evaluar $x_i = \bar{q}$, según la ecuación (16), mientras que s_p se determinó por un número distinto de mediciones.

El número ideal de repeticiones n , es algo que no puede ser dado como recomendación ya que éste depende de las condiciones y exigencia de cada medición específica. Hay que considerar que:

- Aumentar el número de repeticiones resulta en una reducción de la incertidumbre tipo A, la cual es proporcional a $\frac{1}{\sqrt{n}}$.
- Un número grande de repeticiones aumenta el tiempo de medición, que puede ser contraproducente, si las condiciones ambientales u otras magnitudes de entrada no se mantienen constantes en este tiempo.
- En pocos casos se recomienda o se requiere n mayor de 10. Por ejemplo cuando se caracterizan instrumentos o patrones, o se hacen mediciones o calibraciones de alta exactitud.
- Para determinar el impacto que tiene n en la incertidumbre expandida hay que estimar su influencia en el número de grados efectivos de libertad.

Otras fuentes de incertidumbre que se evalúan con este método son la reproducibilidad y las obtenidas al hacer una regresión lineal (Jhon Restrepo, 2016).

2.3.7.1.3.2. EVALUACIÓN TIPO B

Las fuentes de incertidumbre tipo B son cuantificadas usando información externa u obtenida por experiencia. Estas fuentes de información pueden ser:

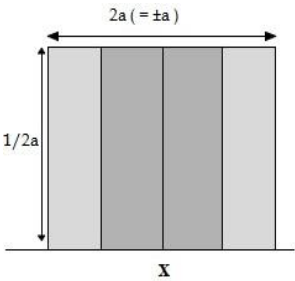
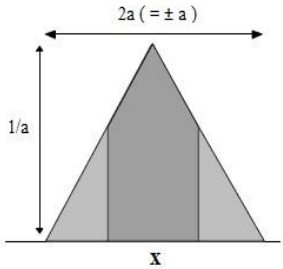
- Certificados de calibración.
- Manuales del instrumento de medición, especificaciones del instrumento.
- Normas o literatura.
- Valores de mediciones anteriores.

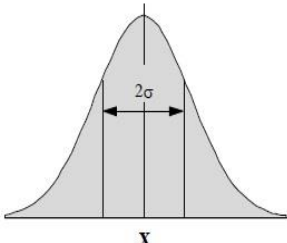
- Conocimiento sobre las características o el comportamiento del sistema de medición.

2.3.7.1.4. CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES DE LA INCERTIDUMBRE

Para convertir cada componente de la incertidumbre a su respectiva incertidumbre estándar, $u(x)$, se emplean los siguientes criterios para seleccionar el tipo de función de distribución que presenta el componente en cuestión (ver Tabla 5).

Tabla 5. Criterios para seleccionar el tipo de función de distribución.

Distribución	Significado	Se utiliza cuando:	incertidumbre
<p>Rectangular</p> 	<p>cada valor en el intervalo tiene la misma probabilidad de suceder</p>	<p>Un certificado u otra especificación establece límites $(\pm a)$ sin especificar un nivel de confianza, o cuando se hace un estimado en la forma de un intervalo $(\pm a)$ sin conocimiento del tipo de distribución.</p>	$U(x) = \frac{a}{\sqrt{3}}$
<p>Triangular</p> 	<p>la probabilidad de ocurrencia es mayor para valores en el centro del intervalo y menor hacia los límites</p>	<p>Los valores cercanos a x son más frecuentes que los cercanos a los límites $(\pm a)$, o cuando se hace una estimación en la forma de un intervalo $(\pm a)$ descrito por una distribución simétrica.</p>	$U(x) = \frac{a}{\sqrt{6}}$

<p>Normal</p> 	<p>Los datos varían aleatoriamente con distribución normal de probabilidad</p>	<p>Se obtiene un estimado por observaciones repetidas.</p> <p>Se reporta una incertidumbre como desviación estándar, desviación estándar relativa o coeficiente de variación, sin que se especifique la distribución.</p> <p>Se reporta una incertidumbre en la forma de un intervalo de confianza (c), sin que se especifique la distribución.</p>	<p>$U(x) = S$</p> <p>$U(x) = S$</p> <p>$U(x) = x(S/\bar{x})$</p> <p>$U(x) = x \cdot CV/100$</p> <p>$U(x) = \frac{c}{2 \text{ ó } 3}$</p> <p>Para 95 ó 99,7 %</p>
---	--	---	---

2.3.7.1.5. FUENTES Y VALORES COMUNES DE INCERTIDUMBRE

A continuación se mostraran los componentes de incertidumbre su causa y el método de como determinarlos; es decir; la manera de como cuantificar las fuentes de incertidumbre individuales aportadas por procedimientos analíticos comunes y la forma de combinar los factores para calcular la incertidumbre estándar de cada fuente.

2.3.7.1.5.1. MEDICIÓN DE MASA

Aplica para el pesaje de reactivos estándares usados en el método, que generalmente se hace por diferencia entre el peso bruto y el peso del recipiente en el cual se pesa el reactivo; en cada pesaje los factores a considerar, tanto en la tara como en el peso bruto, son:

- **Incertidumbre en la calibración de la balanza**, que generalmente recomienda considerar una distribución rectangular para convertirla a incertidumbre estándar:

$$U(m_L) = \frac{a_L}{\sqrt{3}} \quad (21)$$

- **Resolución de la escala de la balanza.**

Variación entre lecturas (repetibilidad). Se estima a partir de la desviación estándar de ensayos de repetibilidad que pueden ser una serie de diez pesajes:

$$U(m_r) = S_{ensayos} \quad (22)$$

Desplazamiento diario, expresado como la desviación estándar de los valores de verificación diaria de la balanza a largo plazo.

Efectos de densidad en base convencional, causados por el efecto de desplazamiento del aire, generalmente no se consideran debido a que todos los resultados de pesaje están dados para peso en el aire y su efecto es insignificante. Efectos de densidad en base vacío, similar a los anteriores.

Como generalmente la pesada de reactivos se hace por diferencia, la contribución se debe contar dos veces, una por cada pesada. Las contribuciones más significativas se combinan para dar la incertidumbre estándar $u(m)$ de la masa m , como la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de cada contribución:

$$U(v) = \sqrt{2x(U(m_L))^2 + U(m_r)^2 + \dots} \quad (23)$$

2.3.7.1.5.2. MEDICIÓN DEL VOLUMEN

Está sujeta a tres fuentes principales de incertidumbre:

- **Calibración** del volumen interno certificado del material, establecidas en las especificaciones dadas por el fabricante que se debe convertir a desviación estándar; si este no reporta un nivel de confianza o tipo de distribución para el volumen calibrado y su intervalo o tolerancia, a_v , se asume una distribución triangular (porque en un proceso productivo efectivo el valor nominal es más frecuente que los extremos).

$$U(v_c) = \frac{a_y}{\sqrt{6}} \quad (24)$$

- **Temperatura:** La diferencia entre la temperatura de preparación de la solución y la temperatura a la que fue calibrado el material causa diferencias de volumen; se calcula del intervalo estimado de temperatura del laboratorio, a_T , alrededor de 20°C (obtenida del monitoreo de condiciones ambientales) y el coeficiente de expansión de volumen $2,1 \times 10^{-4} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ para el agua, el coeficiente de expansión del vidrio se desprecia por ser mucho más pequeño que estos; incertidumbre la incertidumbre estándar se calcula asumiendo una distribución rectangular para la variación de temperatura:

$$U(V_T) = \frac{V_{material} \times a_T \times 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} \quad (25)$$

- **Variación en el llenado del material hasta el aforo.** Se calcula la desviación estándar a partir de ensayos de repetibilidad entre lecturas.

$$(u)(V_r) = S_{\text{ensayos}} \quad (26)$$

V_r : medidas de volumen realizadas

Las tres contribuciones se combinan para dar la incertidumbre estándar $u(V)$ del volumen V , como la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de cada contribución:

$$u(V) = \sqrt{u(V_c)^2 + u(V_T)^2 + u(V_r)^2} \quad (27)$$

Si la temperatura promedio del laboratorio, difiere significativamente de la temperatura de calibración del material volumétrico, usualmente 20°C, se debe corregir el volumen realmente medido, a partir del volumen calibrado.

2.3.7.1.5.3. PREPARACIÓN DE ESTÁNDARES

En la preparación de estándares o material de referencia se consideran como fuentes de incertidumbre las siguientes, que generalmente se cuantifican por separado:

- **La pureza del reactivo patrón**, P como fracción de masa ($P = \%P/100$), es reportada por el fabricante usualmente con los límites, a_P , (intervalo de pureza) y para calcular la incertidumbre estándar $u(P)$ se asume una distribución rectangular:

$$u(P) = \frac{a_P}{\sqrt{3}} \quad (28)$$

- **Concentración por diluciones de los estándares**, debida a las diluciones del patrón para llegar a la solución de trabajo, se obtiene según el material volumétrico empleado.
- **La masa molar del patrón**. Para los elementos que forman la sustancia patrón se toman los pesos atómicos reportados por la IUPAC y sus respectivas incertidumbres, que por definición tienen una distribución rectangular; las correspondientes incertidumbres estándar se obtienen dividiendo por $\sqrt{3}$. Para un patrón de formula molecular $X_x Y_y Z_z$.

$$u(M_{Patrón}) = \sqrt{\left[\sum_{i=x}^{i=z} \frac{u(i)}{\sqrt{3}} xi\right]^2} = \sqrt{\left[\frac{u(X)}{\sqrt{3}} X\right]^2 + \left[\frac{u(Y)}{\sqrt{3}} Y\right]^2 + \left[\frac{u(Z)}{\sqrt{3}} Z\right]^2} + \quad (29)$$

2.3.7.1.5.4. EQUIPOS INSTRUMENTALES DE MEDICIÓN

Tanto para equipos analógicos como para equipos digitales el hecho de emplear un instrumento con una resolución “e” supone que la indeterminación de los valores medidos se encuentra entre $\pm e/2$ con igual probabilidad en este rango. Por ello, la evaluación de incertidumbre se evalúa como:

$$u = \frac{e}{2\sqrt{3}} \quad (30)$$

Tanto la resolución digital como la analógica, así como el redondeo, dan origen a una contribución de incertidumbre que puede ser analizada teniendo en cuenta una distribución rectangular con valor límite $r/2$

Por lo general en las mediciones una de las componentes de incertidumbre que más pesa en la incertidumbre estándar combinada es la que aporta el propio instrumento de medición. La información para cuantificar su valor debe buscarse en el certificado de calibración, en las especificaciones técnicas dadas por el fabricante, etc.

Durante la ejecución de las mediciones se nos pueden presentar dos casos:

1. Se trabaja con la información que aporta el certificado de calibración del instrumento:

- Con el objetivo de aumentar la exactitud del resultado de la medición, se aplican las correcciones que aparecen en el certificado de calibración del instrumento, en el caso más simple, el modelo matemático se expresa como:

$$Y = y + c \quad (31)$$

Donde, y es la indicación del instrumento y c es el valor de la corrección para la indicación, tomado del certificado de calibración. En dicho modelo matemático una de las fuentes de incertidumbre es la incertidumbre asociada a dicha corrección. La incertidumbre estándar de la corrección se calcula como:

$$U_B(c) = \frac{U_{cal}}{K} \quad (32)$$

Donde $U_B(c)$ es la incertidumbre estándar combinada asociada al certificado de calibración del equipo, U_{cal} es la incertidumbre expandida reportada en el certificado de calibración y K es el factor de cobertura con el que fue reportada la incertidumbre expandida en el certificado de calibración.

- Se utiliza la información del certificado de calibración del instrumento pero no se aplican las correcciones a cada lectura individual ya que esto resulta engorroso para el observador. Entonces puede tomarse en calidad de U_{cal} para cada valor de la indicación del instrumento, el valor de la incertidumbre de calibración reportada en cada punto más el valor de la corrección ($U_{cal}+c$). Si se desea utilizar un valor único que represente la incertidumbre de calibración de cualquier lectura que se tome con el instrumento, entonces para ello se puede utilizar el valor máximo de U_{cal} reportado en el certificado de calibración y el valor máximo de las correcciones. De tal manera, para este caso se tomaría en calidad de U_{cal} la suma de ($U_{cal}(\text{máx}) + c(\text{máx})$).

2. No se utiliza la información que aparece reportada en el certificado de calibración y sólo se establece que el instrumento se encuentra calibrado (*Incertidumbre de la Medición: Teoría y Práctica*, s. f.).

2.3.7.2. CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE COMBINADA

La cuantificación de los componentes de la incertidumbre consiste de un número de contribuciones a la incertidumbre global, ya sean asociadas con fuentes individuales o con los efectos combinados de varias fuentes. Estas contribuciones se expresan como desviaciones estándar y se combinan de acuerdo con las reglas apropiadas, para dar una incertidumbre estándar combinada. Finalmente, se aplica el factor de cobertura apropiado para obtener una incertidumbre expandida.

2.3.7.2.1. INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR COMBINADA

La relación general entre la incertidumbre estándar combinada $U_c(y)$ de un valor y y la incertidumbre de los parámetros independientes x_n de los cuales depende ($y(x_n)$) es llamada la ley de propagación de incertidumbre:

$$U_c(Y(X_n)) = \sqrt{\sum_1^n C_i^2 U(X_i)^2} = \sqrt{\sum_1^n U(Y, X_i)^2} \quad (33)$$

2.3.7.2.2. LA INCERTIDUMBRE EXPANDIDA

La incertidumbre expandida $U(C_x)$ se obtiene multiplicando la incertidumbre estándar combinada por un factor de cobertura k , dependiente de los grados de libertad, para obtener un intervalo en el cual se abarque una gran cantidad de la distribución de valores que puedan ser razonablemente atribuidos al mensurando; para la mayoría de los casos se utiliza $k=2$ que equivale a un nivel de confianza de 95% :

$$U_c = 2 \frac{U_c(C_x)}{C_x} \quad (34)$$

Sin embargo, si la incertidumbre combinada se basa en observaciones estadísticas con pocos grados de libertad (menos de seis), se debe seleccionar el valor de k de acuerdo con los grados de libertad de una tabla t de *Student* de dos colas para el nivel de confianza requerido.

2.3.7.2.3. REPORTE DE INCERTIDUMBRE

Cuando se reportan resultados de análisis de rutina suele ser suficiente indicar solamente el valor de la incertidumbre expandida y el valor de k . Los valores numéricos de los resultados se redondean de tal manera que sean consistentes con su incertidumbre, que casi nunca se reporta con más de dos cifras significativas.

- **Reporte de la incertidumbre expandida:** A menos que se requiera otra cosa, el resultado x debe ir acompañado de la incertidumbre expandida U calculada con un factor de cobertura $k=2$, así: “(Parámetro): $x \pm U$ (unidad), la incertidumbre reportada se calculó con un factor de cobertura de 2”; opcionalmente se puede agregar “el cual corresponde a un nivel de confianza de aproximadamente 95%”.
- **Reporte de la incertidumbre estándar:** Cuando la incertidumbre se expresa como la incertidumbre estándar combinada, U_c , se reporta como: “(Parámetro): x (unidad) con una incertidumbre estándar de U_c (unidad) que corresponde a una desviación estándar”.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Validar el método analítico para la determinación de oxígeno disuelto y demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5) en aguas naturales y residuales en el laboratorio de investigación y calidad ambiental del SENA – Regional Córdoba.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar los parámetros estadísticos de la calidad analítica de los métodos a validar como: Límite de detección, límite de cuantificación, intervalo de trabajo, precisión (repetibilidad y reproducibilidad), exactitud (porcentaje de error y recuperación) e incertidumbre.
- Diseñar el protocolo de validación del método analítico para ser desarrollado en el laboratorio de investigación y calidad ambiental del SENA – CCIT Regional Córdoba.

4. METODOLOGÍA ANALÍTICA

4.1. PARTE EXPERIMENTAL

Para la validación de las metodologías analíticas se siguió lo establecido en el plan de validación para el parámetro de DBO_5 (LICAM – OTA – 002) y el plan de validación para el parámetro de oxígeno disuelto (LICAM – OTA – 008) pertenecientes al sistema de gestión de calidad del laboratorio de investigación y calidad ambiental del SENA – CCIT Regional Córdoba. Con lo cual, Se pretende llevar a cabo este trabajo con el fin de obtener de forma experimental a las condiciones particulares del laboratorio los valores de los parámetros que serán útiles para tenerlos como criterio de confiabilidad para evaluar el método analítico. Los parámetros son límite de detección, límite de cuantificación, precisión (Repetibilidad y Reproducibilidad), exactitud, y porcentaje de recuperación. Debido a que se trata de un método normalizado no se evaluarán la: selectividad, sensibilidad, interferencia de la matriz ni robustez.

4.2. MATERIALES Y EQUIPOS

- Erlenmeyer de 250 mL.
- Beacker de 50, 100, 250, 1000 y 2000 mL.
- Bureta de 10 mL.
- Pipetas volumétricas.
- Pipetas Graduadas
- Botellas Winkler de 300 mL
- Probeta graduada de 100, 250 mL
- Botellas Winkler de 300 mL
- Matraz aforado de 100, 250, 500 y 1000 mL
- goteros
- Pipeteador automático.
- Agitador Magnético con plancha de calentamiento Marca: VELP SCIENTIFICA; Modelo: F20510051; Código interno: EQ-TEM-012

- Transferpipeta de 100 – 1000 μL .
- Bomba de aireación Tipo Pecera
- Incubadora de DBO Marca: WTW; Modelo: TS606/2-i; Código interno: EQ-TEM-006
- Horno de calentamiento Marca: VWR; Modelo: 19087; Código interno: EQ-TEM-008
- Balanza Analítica Marca: ADAM; Modelo: PW254; Código interno: EQ-BAL-001
- Balanza Gramera Marca: ADAM; Modelo: WBW5a; Código interno: EQ-BAL-002
- Baño de maría Marca: VWR; Modelo: WD10V11B; Código interno: EQ-TEM-009
- Termohigrómetro digital Marca: Brixco; Modelo: 5011; Código interno: EQ-TEM-016
- Cronómetro.
- Desecador, provisto de un desecante que contiene un indicador colorimétrico de concentración de humedad.
- Frasco lavador.

4.3. REACTIVOS

- Ácido Sulfúrico Concentrado (H_2SO_4)
- Sulfato manganoso monohidratado ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)
- Sulfato manganoso dihidratado ($\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- Sulfato manganoso Tetrahidratado ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)
- Hidróxido de Sodio (NaOH)
- Hidróxido de Potasio (KOH)
- Yoduro de Potasio (KI)
- Yoduro de Sodio (NaI)
- Tiosulfato de Sodio pentahidratado ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

- Azida de Sodio (NaN_3)
- Almidón
- Ácido Salicílico ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$)
- Biyodato Ácido de Potasio [$\text{KH}(\text{IO}_3)_2$]
- Fosfato Diácido de Potasio (KH_2PO_4)
- Fosfato ácido de potasio (K_2HPO_4)
- Fosfato ácido de sodio heptahidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
- Cloruro de amonio (NH_4Cl)
- Hidróxido de Sodio (NaOH)
- Sulfato de magnesio heptahidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
- Cloruro de calcio (CaCl_2)
- Cloruro férrico Hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)
- Ácido Sulfúrico (H_2SO_4)
- Sulfito de sodio (Na_2SO_3)
- Ácido Glutámico ($\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$)
- Glucosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)
- 2 – cloro – 6 – (triclorometil) piridina (TCMP)

4.4. MUESTREO Y PRESERVACIÓN

- **Demanda Bioquímica de Oxígeno**

Para envasar las muestras se utilizaron recipientes de vidrio ámbar resistente, en los que el material en suspensión no debe adherirse a las paredes. La toma de muestra de agua residual se realizó en la entrada del sistema de tratamiento de aguas residuales del ambiente de panificación del SENA - CCIT y la muestra de agua natural fue tomada del Río Sinú, Calle 37 con avenida primera en la ciudad de Montería, estas fueron refrigeradas a una temperatura $\leq 6^\circ\text{C}$ durante (2) días hasta realizar el análisis para reducir al mínimo la descomposición microbiológica de la materia orgánica.

- **Oxígeno Disuelto**

Las muestras para la determinación de oxígeno disuelto en la matriz de agua natural y residual, se tomaron directamente en botellas Winkler, debido a que se trata de un análisis In situ, que se debe realizar inmediatamente en el sitio de muestreo. La toma de muestra de agua residual se realizó en la entrada del sistema de tratamiento de aguas residuales del ambiente de panificación del SENA - CCIT y la

muestra de agua natural fue tomada del Rio Sinú, Calle 37 con avenida primera en la ciudad de Montería.

4.5. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS

- **Demanda Bioquímica de Oxígeno**

Varios factores (como por Ejemplo., compuestos orgánicos solubles frente a compuestos orgánicos particulados, sólidos sedimentables y flotantes, oxidación de compuestos de hierro y azufre y falta de mezcla) pueden afectar la precisión y exactitud de las mediciones de DBO. Actualmente, no hay ajustes efectivos o correcciones para compensar estos factores.

Los microorganismos pueden oxidar formas reducidas de nitrógeno, como el amoníaco y el nitrógeno orgánico, ejerciendo así una demanda de nitrógeno. Históricamente, la demanda nitrogenácea se ha considerado una interferencia en las pruebas de DBO; la adición de amoniaco al agua de dilución contribuye a una fuente externa de demanda de nitrógeno.

La interferencia de la demanda nitrogenácea ahora puede prevenirse mediante el uso de sustancias químicas inhibidoras, pero si no se utilizan, la demanda medida de oxígeno es la suma de las demandas Carbonácea y nitrogenácea.

Las mediciones que incluyen la demanda de nitrógeno generalmente no son útiles para evaluar la demanda de oxígeno asociada con el material orgánico. La demanda nitrogenácea puede estimarse directamente a partir del nitrógeno amoniacal, y la demanda Carbonácea puede estimarse restando el equivalente teórico del nitrito y el nitrato producidos en resultados de prueba no inhibidos. Sin embargo, este método es engorroso y está sujeto a un error considerable. La inhibición química de la demanda nitrogenácea proporciona una medida más directa y confiable de la demanda Carbonácea.

- **Oxígeno disuelto**

La principal interferencia en la determinación de Oxígeno Disuelto por el método Winkler es el ión Nitrito (NO_2^-), la cual es eliminada por la modificación de azida. Use la modificación de azida para la mayoría de las muestras de aguas residuales, efluentes y aguas naturales, especialmente si la muestra contiene concentraciones mayores a $50 \mu g N - NO_2^-/L$ y una concentración menor o igual a $1 mg Fe(II)/L$.

4.6. PROTOCOLO DE ANÁLISIS

Para la realización de las validaciones de oxígeno disuelto y la demanda bioquímica de oxígeno, se siguió la metodología establecida en el procedimiento técnico de análisis para la determinación de oxígeno disuelto método Winkler – Modificación de Azida SM: 4500 O – C, Código interno LICAM-PTA-010, y la establecida en el procedimiento técnico de análisis para la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno método prueba de los cinco días SM: 5210 B, Código interno LICAM-PTA-012. Dichos procedimientos tienen como referencia lo establecido en el libro de métodos normalizados Standard Methods for the examination and water and wastewater edición 23 del año 2017.

4.6.1. OXÍGENO DISUELTO

• PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

- Solución de Sulfato Manganeso.

Disolver 480 gramos de sulfato manganeso Tetrahidratado ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), 400 gramos de Sulfato manganeso dihidratado ($\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) o 364 gramos de sulfato manganeso monohidratado ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) en agua destilada, filtrar y diluir a 1 L. La solución de Sulfato Manganeso no debe dar un color con almidón cuando se agrega a una solución acidificada de yoduro de potasio (KI).

- Reactivo Alkali – Yoduro – Azida.

Disolver 500 gramos de Hidróxido de Sodio (NaOH) [o 700 gramos de Hidróxido de Potasio (KOH)] y 135 gramos de Yoduro de Sodio (NaI) o 150 gramos de Yoduro de Potasio (KI) en agua destilada y diluir a 1 L. Adicionar 10 gramos de Azida de Sodio (NaN_3) disueltos en 40 mL de agua destilada. Las sales de potasio y sodio pueden usarse indistintamente. Este reactivo no debe dar un color con solución de almidón cuando se diluye y acidifica.

- Ácido Sulfúrico Concentrado

- Solución Indicadora de Almidón.

Disolver 2 g de almidón soluble y 0.2 g de ácido salicílico (como conservante) en 100 ml de agua destilada caliente.

- Titulante Estándar de Tiosulfato de Sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$).

Disolver 6,2050 gramos de Tiosulfato de Sodio pentahidratado ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) en agua destilada. Adicionar 1,5 mL de Solución de Hidróxido de Sodio (NaOH) 6M o 0,4 gramos de Hidróxido de Sodio Sólido y diluir a 1000 mL. Estandarizar con Solución de Biyodato de Potasio ($\text{KH}(\text{IO}_3)_2$).

- Solución Estándar de Biyodato Ácido de Potasio 0,0021M.

Disolver 812,4 mg de $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$ en agua destilada y diluir a 1000 mL.

• PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

- Estandarización del Titulante Estándar de Tiosulfato de Sodio

Disolver Aproximadamente 2 gramos de yoduro de potasio (KI) libres de yodato en 100 a 150 mL de agua. Adicionar 1 mL de Solución de Ácido Sulfúrico 3M o unas pocas gotas de Ácido Sulfúrico Concentrado y 20 mL de Solución Estándar de Biyodato. Diluir a 200 mL y titular el yodo liberado con El Titulante Estándar de tiosulfato de Sodio, agregar almidón hacia el final de la titulación cuando se alcance un color paja pálida. Cuando las soluciones tengan la misma Concentración, se requerirán 20.00 mL de Titulante Estándar de Tiosulfato de Sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0.025M.

- Análisis de la Muestra.

1. A la muestra recolectada en una botella Winkler de 300 mL, adicione 1 mL de Solución de Sulfato Manganoso seguido de 1 mL de Reactivo Álcali – yoduro – Azida. sostenga las puntas de las pipetas justo por encima de la superficie del líquido cuando agregue los reactivos.
2. Tapar cuidadosamente la botella para excluir las burbujas de aire, y mezclar invirtiendo la botella varias veces.
3. Cuando el precipitado se haya sedimentado dejando un sobrenadante claro por encima del floc de hidróxido de manganeso, agregue 1,0 mL de Ácido Sulfúrico Concentrado (H_2SO_4).
4. Mezclar invirtiendo varias veces hasta que el precipitado se disuelva por completo y Titular un volumen correspondiente a 200 mL de muestra original.
5. Titular con solución Titulante estándar de tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0.025M a un color amarillo pálido. Agregue 5 gotas de solución de almidón y continúe la titulación hasta la primera desaparición del color azul. No tenga en cuenta las reapariciones del color azul posteriores debido al efecto catalítico del nitrito o a las trazas de sales férricas.

- **CÁLCULO**

Si en la estandarización de la solución Titulante de tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) la concentración de este resulta ser 0,025M y se titulan 200 mL de muestra, entonces 1 mL de solución Titulante de tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) equivalen a 1mg O_2/L . de lo contrario determine la concentración de oxígeno usando la siguiente ecuación.

$$mg \frac{\text{O}_2}{\text{L}} = \frac{V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \times C_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \times 8000}{V_M}$$

$V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}$ = Volumen de solución Titulante estándar de tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) en la titulación (mL).

$C_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}$ = Concentración de la solución Titulante estándar de tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) en Molaridad (M).

V_M = Volumen de Muestra en mL

4.6.2. DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO

- **PREPARACIÓN DE SOLUCIONES**

Deseche los reactivos si hay algún signo de precipitación o crecimiento biológico en las botellas de reserva.

- Solución Buffer de Fosfato.

Disolver 8,5 gramos de fosfato diácido de potasio (KH_2PO_4), 21,75 gramos de fosfato ácido de potasio (K_2HPO_4), 33,4 gramos fosfato ácido de sodio heptahidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) y 1,7 gramos de cloruro de amonio (NH_4Cl) en 500 mL de agua destilada y diluir a 1 L. el pH de esta solución debería ser de 7,2 sin más ajustes. Alternativamente, disolver 42,5 gramos de KH_2PO_4 y 1,7 gramos de cloruro de amonio (NH_4Cl) en aproximadamente 700 mL de agua destilada. Ajustar el pH a 7,2 con solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 30 % p/v y diluir a 1000 mL.

- Solución de Sulfato de Magnesio.

Disolver 22,5 gramos de Sulfato de magnesio heptahidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) en agua destilada y diluir a 1000 mL.

- Solución de Cloruro de Calcio.

Disolver 27,5 gramos de cloruro de calcio en agua destilada y diluir a 1000 mL.

- Solución de Cloruro Férrico.

Disolver 0,25 gramos de Cloruro Férrico Hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) en agua destilada y diluir a 1000 mL.

- Ácido Sulfúrico 1N.

Lentamente y mientras se agita adicionar 28 mL de Ácido Sulfúrico concentrado (H_2SO_4) en agua destilada. Diluir a 1000 mL.

- Hidróxido de Sodio 1N.

Disolver 40 gramos de Hidróxido de Sodio en agua destilada y diluir a 1000 mL.

- Solución de Sulfito de Sodio.

Disolver 1,575 gramos de Sulfito de Sodio (Na_2SO_3) en agua destilada y diluir a 1000 mL. Esta Solución es inestable, prepare diariamente.

- Solución de Glucosa – Ácido Glutámico.

Seque Glucosa y Ácido Glutámico a 103 – 105 °C por 1 hora. Adicione 150 mg de Glucosa y 150 mg de Ácido Glutámico en agua destilada y diluya a 1000 mL. Prepare la solución fresca inmediatamente antes del análisis a menos que la solución se mantenga en un recipiente estéril. Deseche las soluciones si está indicada la evidencia de contaminación (p. Ej., El crecimiento ocurre en la botella madre o los resultados de la prueba de la solución de glucosa – Ácido Glutámico son consistentemente bajos).

- Solución de Cloruro de Amonio.

Disolver 1,15 gramos de Cloruro de amonio (NH_4Cl) en 500 mL de agua destilada, ajustar el pH a 7,2 con Solución de NaOH, y diluir a 1000 mL. La solución Contiene 0,3 mg de N/mL.

- Suspensión de Polyseed.

Adicionar el contenido de una capsula de inóculo Polyseed en un matraz aforado de 500 mL y agregar agua hasta el aforo. Añadir una pastilla de agitación y agitar el contenido del matraz por 15 minutos. Luego, Dejar en reposo la solución por 15 minutos y tomar como suspensión de polyseed de trabajo el sobrenadante.

- **PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS**

- **Preparación de la muestra y pretratamiento.**

1. Ajustar el pH de las muestras si este no se encuentra entre 6,0 y 8,0, ajustar la temperatura de la muestra a 20 ± 3 °C, entonces ajustar el pH entre 6,5 y 7,5 usando solución de Ácido Sulfúrico o Hidróxido de Sodio lo suficientemente concentrada para no diluir la muestra por más del 0,5 %. Las excepciones se pueden justificar con aguas naturales cuando la DBO se medirá a valores de pH in situ. El pH del agua de dilución no debe verse afectado por la dilución de la muestra. Siempre siembre las muestras a las que se le haya ajustado el pH.
2. Muestras que contengan cloro residual, Si es posible, evite las muestras que contienen cloro residual realizando el muestreo antes de los procesos de cloración. Si hay cloro residual, elimínelo de la muestra. A veces, el cloro se disipa de la muestra dentro de 1 a 2 horas de estar a la luz; esto ocurre a menudo durante el transporte y la manipulación. Si el cloro residual no se disipa en un tiempo razonablemente corto, destrúyalo agregando solución de Na_2SO_3 . Determine el volumen requerido de solución de Na_2SO_3 en una porción de 100 a 1000 mL de muestra neutralizada agregando 10 mL de 1+1 de ácido acético o 1 + 50 de H_2SO_4 y 10 mL de solución de yoduro de potasio (KI) (10 g de KI/ 100 mL de Solución) por muestra de 1000 ml, y luego titule con solución de Na_2SO_3 usando almidón como indicador en el punto final. Agregue a la muestra neutralizada un volumen proporcional de la solución de Na_2SO_3 determinado por la prueba anterior, mezcle y compruebe la muestra para detectar cloro residual después de 10 a 20 minutos. (NOTA: El exceso de Na_2SO_3 ejerce una demanda de oxígeno y reacciona lentamente con ciertos compuestos orgánicos de cloramina que pueden estar presentes en las muestras cloradas). No analice muestras cloradas sin sembrar un inóculo.
3. Muestras que contienen otras sustancias tóxicas: ciertos desechos industriales (por ejemplo, desechos de metalurgia) contienen metales tóxicos. Tales muestras a menudo requieren un estudio y tratamiento especial.
4. Muestras sobresaturadas con oxígeno: muestras con concentraciones de oxígeno mayor a la saturación a 20 °C se recolectan en aguas frías o en aguas donde ocurre la fotosíntesis. Para prevenir la pérdida de oxígeno cuando se incuben tales muestras, reduzca el oxígeno disuelto a saturación llevando la muestra a aproximadamente 20 ± 3 °C en una botella parcialmente llena mientras se agita vigorosamente.
5. Muestras que contienen peróxido de Hidrógeno: El peróxido de hidrógeno que queda en las muestras de algunos procesos industriales de blanqueo

(por ejemplo, los utilizados en fábricas de papel y textiles) puede causar niveles sobresaturados de oxígeno en muestras recolectadas para la prueba de DBO. Mezcle dichas muestras vigorosamente en recipientes abiertos el tiempo suficiente para permitir que el peróxido de hidrógeno se disipe antes de establecer las pruebas de DBO. Compruebe la eliminación del peróxido mediante la observación de las concentraciones de OD con el tiempo durante la mezcla o mediante el uso de tiras reactivas específicas para peróxido. Los tiempos de mezcla pueden variar de 1 a 2 horas, dependiendo de la cantidad de peróxido de hidrógeno presente. La reacción del peróxido puede considerarse completa cuando el oxígeno disuelto ya no aumente durante un período de 30 minutos sin mezclarse.

- Selección y almacenamiento del agua de origen para la dilución de muestras de DBO.

Obtenga agua de una fuente adecuada (es decir, agua destilada, de grifo o grado reactivo). Asegúrese que el agua no contenga metales pesados, específicamente cobre (< 0.05 mg/L) y sustancias tóxicas [por ejemplo, cloro (< 0.10 mg/L) que puedan interferir con las mediciones de DBO. Proteja la calidad del agua de la fuente utilizando cristalería, tubos y botellas limpia. El agua desionizada a menudo contiene suficientes elementos orgánicos y microorganismos que pueden hacer que falle la verificación del control de calidad del agua de dilución. No se recomienda agua Desionizada a menos que el blanco de dilución cumpla consistentemente con los límites del control de calidad. No se recomienda almacenar agua de dilución preparada durante un tiempo mayor a 24 horas después de agregar los nutrientes, minerales y el tampón. Deseche el agua de la fuente almacenada si el blanco de agua de dilución muestra una depleción de 0.2 mg/L de OD en 5 días.

- Preparación de la Suspensión de inóculo.

Cada botella de DBO (Winkler) debe contener una población de microorganismos que pueda oxidar la materia orgánica biodegradable en la muestra. El laboratorio usa como inóculo polyseed.

- Procedimiento de ensayo.

1. Preparación del agua de Dilución.

Transfiera un volumen de agua de la fuente a una botella de tamaño adecuado (el volumen que se tomará del agua de la fuente depende del número de muestras a analizar). Airee el agua de dilución mínimo por 2 horas para saturarla de oxígeno. Verifique que la concentración de OD sea de al menos 7.5 mg O_2 /L antes de usar el agua para las pruebas de DBO. Para ello, llene una botella Winkler con agua aireada y Determine el Oxígeno Disuelto usando el procedimiento técnico de análisis de oxígeno Disuelto

método modificación de Azida Código: LICAM – PTA – 010. Si el oxígeno es mayor a 7,5 mg O₂/L, Adicione 1 mL de Solución Buffer de fosfato, Solución de Sulfato de magnesio, Solución de Cloruro de Calcio y Solución de Cloruro Férrico por cada litro de agua de dilución aireada. Mezcle bien y mantenga la temperatura del agua a 20 ± 3 °C. Prepare el agua de dilución inmediatamente antes de su uso. Si los blancos de agua de dilución muestran una disminución de OD > 0.2 mg O₂/L, entonces mejore la purificación o use agua de otra fuente. No agregue agentes oxidantes ni exponga el agua de dilución a la luz ultravioleta para tratar de mejorar los resultados de los blancos.

2. Ajuste de la temperatura de las muestras.

Llevar la temperatura de las muestras a 20 ± 3 °C antes de hacer diluciones.

3. Preparación de Diluciones.

Hacer mínimo tres diluciones de la muestra preparada para producir, al final de la prueba, al menos una dilución con un residual de oxígeno ≥ 1,0 mg O₂/L y una disminución de oxígeno disuelto ≥ 2,0 mg O₂/L. Cuando no se presentan datos históricos de muestras, Un análisis como la DQO puede correlacionarse aproximadamente con la DBO y servir como guía para seleccionar las diluciones. En ausencia de conocimiento, use los siguientes porcentajes de aguas residuales cuando prepare diluciones: 0.01 a 1.0% para desechos industriales fuertes, 1 a 5% para aguas residuales sin tratar y sedimentadas, 5 a 25% para aguas residuales tratadas biológicamente, y 25 a 100% para aguas de río contaminadas. Prepare las diluciones en recipientes volumétricos (vidrio Clase A o equivalente) y luego transfíralos a las botellas de DBO, o bien prepárese directamente en las botellas de DBO. Cualquiera de los dos métodos de dilución se puede usar para transferir muestras a las respectivas botellas de DBO.

4. Adición de Suspensión de Inóculo.

Agregue 1 mL de suspensión de inóculo de polyseed a las botellas individuales de DBO antes de la dilución final. Agite la suspensión de la semilla durante la transferencia para asegurar que se agregue la misma cantidad de microorganismos a cada botella de DBO. El consumo de oxígeno disuelto atribuible a la semilla añadida generalmente debe estar entre 0.6 y 1.0 mg O₂/L, pero ajuste la cantidad de suspensión de inóculo según sea necesario para proporcionar resultados del estándar glucosa – Ácido Glutámico de 198 ± 30.5 mg O₂/L.

5. Sellado de las Botellas de DBO (Winkler).

Rellene completamente cada botella agregando suficiente agua de dilución para que la inserción del tapón de vidrio en el winkler no deje burbujas en la botella. Como precaución para evitar que entre aire en la botella de dilución durante la incubación, use un sello hidráulico y coloque encima del tapón de vidrio una capucha de papel aluminio que impida la evaporación del agua del sello hidráulico.

6. Determinación del Oxígeno Disuelto Inicial.

Determine el Oxígeno Disuelto inicial usando el procedimiento técnico de análisis de oxígeno Disuelto método modificación de Azida Código: LICAM – PTA – 010.

7. Incubación de las muestras.

Incubar a los 20 ± 1 °C las botellas de DBO tapadas y selladas que contienen las diluciones deseadas. Excluya la luz para evitar el crecimiento de algas en las botellas durante la incubación.

8. Determinación del Oxígeno Disuelto Final.

Después de 5 días \pm 6 horas de incubación, determine el Oxígeno Disuelto en todas las diluciones, blanco y controles usando el procedimiento técnico de análisis de oxígeno Disuelto método modificación de Azida Código: LICAM – PTA – 010.

- Adición de inhibidor de Nitrificación.

Las muestras que pueden requerir la inhibición de la nitrificación incluyen, pero no están limitadas a efluentes tratados biológicamente, muestras sembradas con efluentes tratados biológicamente y aguas de ríos. Tenga en cuenta el uso de la inhibición de la nitrificación y el químico relacionado utilizado al informar los resultados. Si una muestra requiere inhibición de nitrificación adicione a la botella Winkler 3 mg de TCMP por cada botella de 300 mL. (**NOTA:** Antes de adicionar el TCMP a la botella de DBO, adicione agua de dilución hasta llenar la botella dos tercios de su volumen. (**NOTA:** el TCMP se disuelve lentamente y puede flotar en la parte superior de la muestra si no se mezcla bien).

- **CÁLCULO**

para cada botella de prueba con un residual de oxígeno $\geq 1,0$ mg O₂/L y una disminución de oxígeno disuelto $\geq 2,0$ mg O₂/L.

$$DBO_5 \text{ como } \frac{mg \text{ O}_2}{L} = \frac{(D_1 - D_2) - [(S)V_s]}{P}$$

D_1 = Oxígeno disuelto de la muestra diluida inmediatamente después de la preparación.

D_2 = Oxígeno disuelto de la muestra diluida después de los 5 días de incubación a 20 °C.

S = Disminución de Oxígeno en el control semilla [ΔOD /mL de suspensión de inóculo adicionados en el control semilla. ($S = 0$ si no se le adiciona a la muestra Suspensión de inóculo)].

V_s = Volumen de suspensión de inóculo adicionado en la botella de muestra.

P = Volumen de la muestra sembrada / Volumen de la Botella Winkler (300 mL).

5. METODOLOGÍA SEGÚN PLAN DE VALIDACIÓN

Para la evaluación de los parámetros estadísticos de la validación, se siguió lo establecido en los planes de validación para oxígeno disuelto y demanda bioquímica de oxígeno códigos internos LICAM-OTA-008 y LICAM-OTA-002 respectivamente. Los cuales detallan a continuación:

5.1. OXÍGENO DISUELTO

- **INTERVALO DE TRABAJO**

No es necesario evaluarlo. Depende de la Presión, Temperatura y Salinidad de muestras típicas.

- **EXACTITUD COMO PORCENTAJE DE ERROR**

Calentar o enfriar volúmenes adecuados de agua destilada a 20, 30 y 40 °C mientras se saturan de aire por burbujeo con una bomba durante dos o más horas. Tomar una muestra y verificar la temperatura antes de realizar el análisis.

Analizar el agua destilada a las diferentes temperaturas 7 veces durante 3 días.

Calcular el % de error con relación al valor de OD de saturación a temperatura del agua y presión del laboratorio.

- **PRECISIÓN (REPETIBILIDAD)**

Analizar agua destilada a las temperaturas de 20, 30 y 40 °C, 7 veces en un mismo día. Para las muestras analizar 7 réplicas de cada matriz en un mismo día.

- **PRECISIÓN (REPRODUCIBILIDAD) ENTRE DÍAS**

Hacer las mediciones de repetibilidad durante 3 días Sólo para el agua destilada a las temperaturas de 20, 30 y 40 °C.

- **PRECISIÓN (REPRODUCIBILIDAD) ENTRE ANALISTAS**

Hacer las mediciones de repetibilidad al agua destilada a las temperaturas de 20, 30 y 40 °C con diferentes analistas.

INCERTIDUMBRE

- Para el cálculo de la incertidumbre se establecerán las fuentes de incertidumbre durante todo el proceso. Para esto se tendrá en cuenta el siguiente diagrama de causa – efecto.

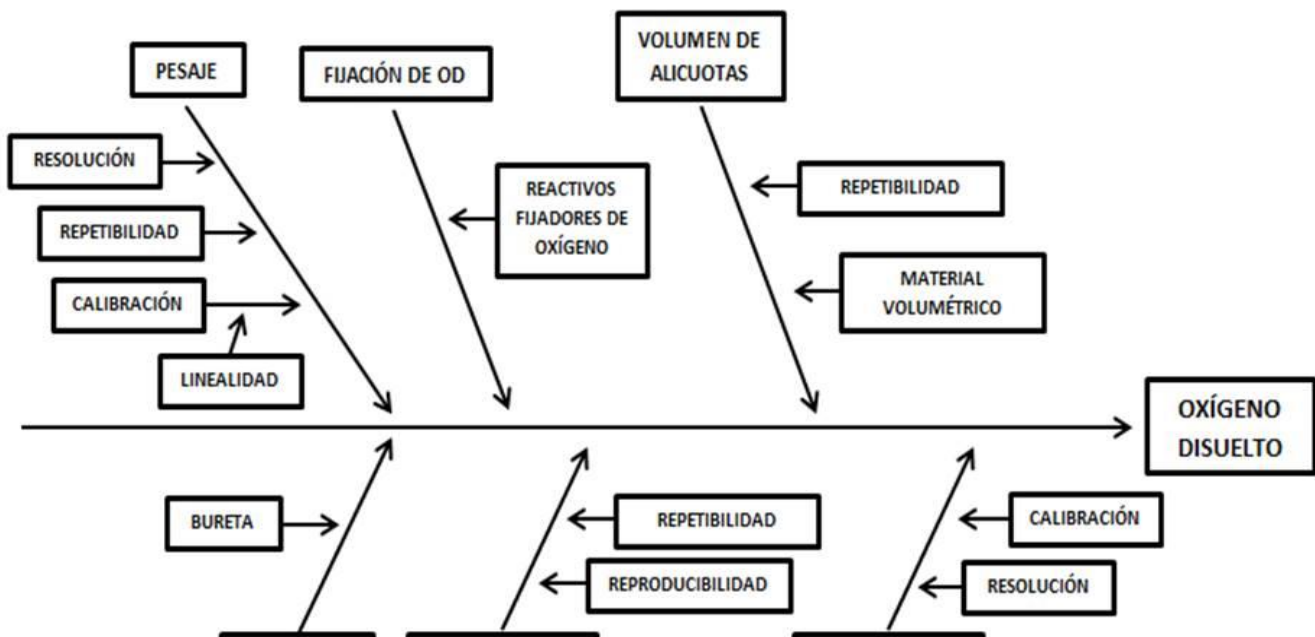


Figura 2. Diagrama Causa – Efecto para oxígeno disuelto.

• ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron reportados como la media más o menos la desviación estándar. Se calculó coeficiente de variación (%CV) y porcentaje de error (%E) para

evaluar precisión y exactitud del método. El programa estadístico empleado fue Microsoft Office Excel.

5.2. DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO

- **LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO**

Para determinar este parámetro se analizaron siete (7) estándares de glucosa – ácido glutámico con concentración conocida y luego se calculó el LDM con la ecuación (9).

Según Standard Methods los resultados más confiables se obtienen cuando hay un consumo mínimo de 2 mg O₂/L. por lo tanto, el laboratorio optó para la determinación del límite de detección del método y el límite de cuantificación preparar un estándar con una concentración de 1,98 mg O₂/L. de dicho estándar se sembraron 7 alícuotas sin dilución y se analizaron en un día.

- **LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN**

Para determinar el límite de cuantificación se tomó la concentración promedio de los siete (7) estándares correspondientes al límite de detección el cual se calculó a partir de la siguiente expresión:

$$LC = \bar{X} + 10 * S \quad (35)$$

Dónde:

\bar{X} : Promedio de concentración correspondiente al LDM.

S: Desviación estándar del patrón analizado

- **INTERVALO DE TRABAJO**

Se establece según las muestras típicas, y los ensayos de exactitud.

Este parámetro se determinó realizando pruebas de ensayos para la cuantificación de la demanda bioquímica de oxígeno en agua natural y residual, preparando estándares de 19.8, 198 y 990 mg O₂/L.

- **EXACTITUD**

- **PORCENTAJE DE ERROR**

Preparar soluciones de 19.8, 198 y 990 mg O₂/L. Sembrar y analizar 5 réplicas de cada estándar cada día, durante 3 días. Según la dilución más adecuada. Los resultados obtenidos se evaluaron según la ecuación **(11)**

- **PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN**

El porcentaje de recuperación se determinó por réplicas de cinco (5), adicionando a las matrices de estudio (agua natural y agua residual) una cantidad conocida de glucosa – ácido glutámico para obtener adiciones para la matriz de agua natural igual a 19,8 mg O₂/L y para la matriz de agua residual igual a 198 mg O₂/L, teniendo en cuenta que no salga del intervalo de trabajo; los resultados se calcularon mediante la ecuación **(12)**.

- **PRECISIÓN (REPETIBILIDAD)**

Se determinó por análisis de muestras, estándares y adicionados por réplicas de cinco (5) en un mismo día y con las mismas condiciones.

- **PRECISIÓN (REPRODUCIBILIDAD) ENTRE DÍAS**

Se determinó por análisis de estándares, muestras y adicionados por réplicas de cinco (5) durante 3 días continuos.

- **PRECISIÓN (REPRODUCIBILIDAD) ENTRE ANALISTAS**

Hacer las mediciones de repetibilidad a los estándares con diferentes analistas en un mismo día.

- **INCERTIDUMBRE**

Para el cálculo de la incertidumbre se establecerán las fuentes de incertidumbre durante todo el proceso. Para esto se tendrá en cuenta el siguiente diagrama de causa – efecto.

- **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

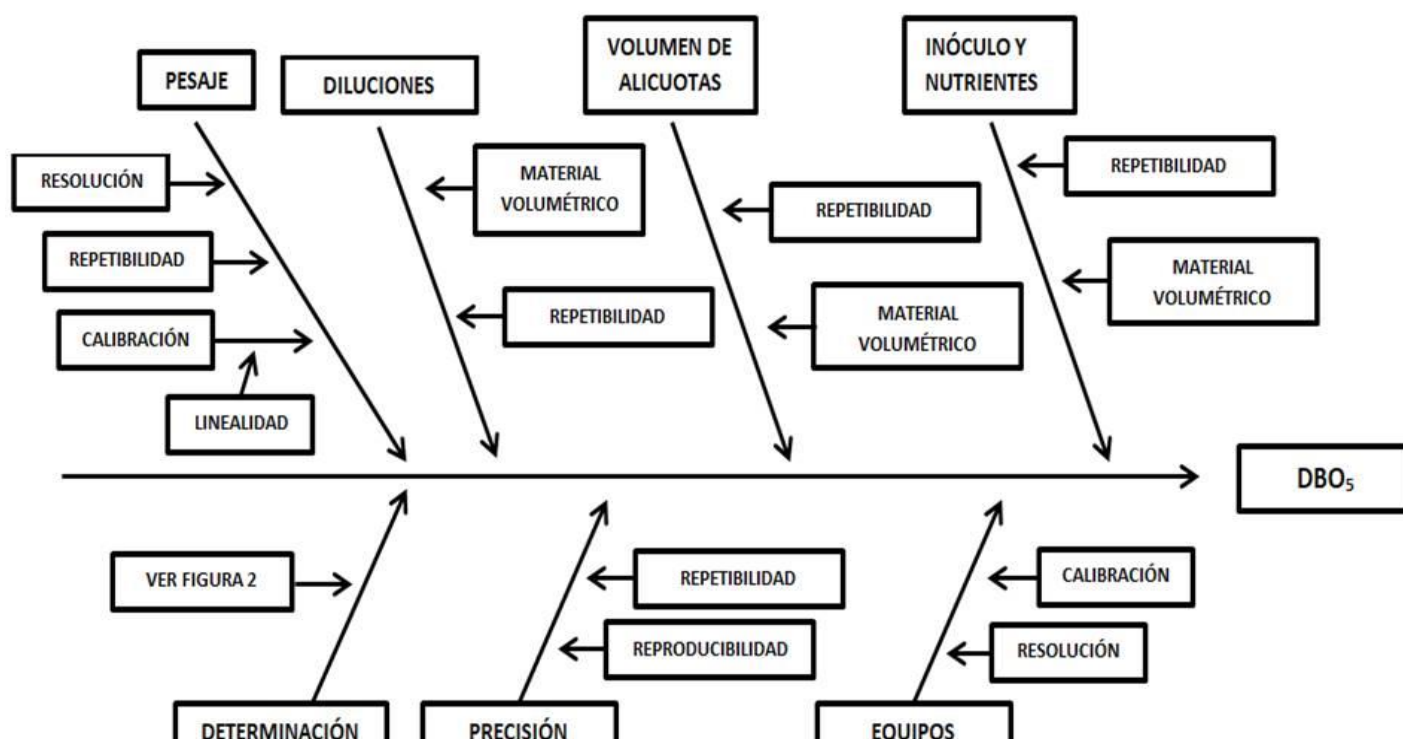


Figura 3. Diagrama Causa – Efecto para Demanda bioquímica de oxígeno.

Los resultados fueron reportados como la media más o menos la desviación estándar. Se calculó coeficiente de variación (%CV) y porcentaje de error (%E) para evaluar precisión y exactitud del método. El programa estadístico empleado fue Microsoft Office Excel.

6. RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1. OXÍGENO DISUELTO

Los resultados de los ensayos realizados durante la validación del método se presentan en el anexo 1. A continuación se presenta el test de rechazo de datos y la determinación de la precisión (repetibilidad, reproducibilidad), exactitud (%E,) e incertidumbre.

6.1.1. RECHAZO DE DATOS

Las Tablas 6 y 7 muestran los resultados obtenidos del análisis estadístico de rechazo de datos de los estándares y muestras ejecutados por réplicas de 7 durante tres días diferentes consecutivos por el mismo analista, y en un día por dos analistas diferentes. Los resultados no generaron ningún dato anómalo, por lo cual no fue necesario rechazo. Este criterio fue aplicado para verificar que en esta serie de datos, alguno o algunos de los valores no difirieran del resto de forma inexplicable, para ello se aplicó la prueba de Grubbs. Se aceptó la hipótesis nula (Hipótesis nula H_0 : todas las medidas proceden de la misma población) al presentarse que la prueba de Grubbs T calculado para $T_{\text{mínimo}}$ y $T_{\text{máximo}}$ en todos los ensayos son menores al T de rechazo con nivel de confianza del 95%.

Tabla 6. Análisis de rechazo de datos de los resultados de estándares.

RESULTADOS DE ESTANDARES												
	RANGO BAJO (20°C)				RANGO MEDIO (30 °C)				RANGO ALTO (40 °C)			
	Día 1	Día 2	Día 3 - analista 1	Día 3 - analista 2	Día 1	Día 2	Día 3 - analista 1	Día 3 - analista 2	Día 1	Día 2	Día 3 - analista 1	Día 3 - analista 2
t para rechazo	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94
Valor promedio	8,81	8,50	8,76	8,81	7,21	7,21	7,28	7,31	6,31	6,24	6,30	6,33
Valor mínimo	8,70	8,40	8,66	8,76	7,14	7,15	7,20	7,26	6,24	6,21	6,00	6,28

Valor máximo	8,90	8,60	8,88	8,90	7,30	7,31	7,36	7,34	6,40	6,29	6,54	6,38
t bajo	1,83	1,26	1,31	1,08	1,51	1,11	1,29	1,69	0,94	1,04	1,63	1,11
t alto	1,45	1,34	1,65	1,87	1,87	1,85	1,49	0,80	1,35	1,61	1,39	1,32
N° total de datos	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
N° datos OK	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7

Tabla 7. Análisis de rechazo de datos de los resultados de las muestras.

RESULTADOS DE MUESTRAS		
	AGUA NATURAL	AGUA RESIDUAL
	Día 1	
t para rechazo	1,94	1,94
Valor promedio	7,97	1,01
Valor mínimo	7,94	1,00
Valor máximo	8,00	1,02
t bajo	1,23	0,80
t alto	1,12	1,07
N° total de datos	7	7
N° datos OK	7	7

6.1.2. EXACTITUD

La exactitud fue evaluada como porcentaje de error (%E) para las diferentes temperaturas a las cuales se llevó a cabo la saturación del agua destilada con oxígeno mediante aireación (20, 30 y 40 °C). En la tabla 8, se muestran las concentraciones de oxígeno a cada una de las temperaturas evaluadas, considerando la corrección de la presión atmosférica, que durante los días en los que se realizó la validación, presentó un valor promedio de 0,9988 atm. Las concentraciones de oxígeno a dicha presión, se calcularon usando las ecuaciones **(2), (3) y (4)**. Cada uno de los análisis se realizaron por réplicas de siete (7)

Tabla 8. Concentración de oxígeno en agua destilada aireada hasta saturación bajo las condiciones de presión de montería.

P(atm)	t(°C)	Θ	C(mg O ₂ /L)	T(K)	P _{vv} (atm)	C _p (mg O ₂ /L)
0,9988	20	0,0007155	9,092	293,15	0,023074	9,07
0,9988	30	0,0006051	7,559	303,15	0,041876	7,54
0,9988	40	0,0005076	6,412	313,15	0,072796	6,40

Tabla 9. Porcentaje de error de los diferentes rangos de temperatura y saturación de oxígeno.

EXACTITUD ANALISTA 1									
ENSAYOS	RANGO BAJO (20°C)			RANGO MEDIO (30°C)			RANGO ALTO (40°C)		
	mg O ₂ /L	%Error	%Error prom	mg O ₂ /L	%Error	%Error prom	mg O ₂ /L	%Error	%Error prom
Día 1	9,07	2,83	4,18	7,54	4,36	4,06	6,40	1,46	1,82
Día 2		6,29			4,35			2,43	
Día 3		3,43			3,46			2,31	
EXACTITUD ANALISTA 2									
ENSAYOS	RANGO BAJO (20°C)			RANGO MEDIO (30°C)			RANGO ALTO (40°C)		
	mg O ₂ /L	%Error	%Error prom	mg O ₂ /L	%Error	%Error prom	mg O ₂ /L	%Error	%Error prom
Día 3, ANALISTA 2	9,07	2,83	2,83	7,54	3,00	3,00	6,40	1,12	1,12

Se obtuvieron porcentajes de errores promedio no mayor a 6,29 % para el análisis del agua saturada con oxígeno a las diferentes temperaturas (Tabla 9). Indicando que el procedimiento analítico empleado tiene buena capacidad para determinar

cuantitativamente el oxígeno disuelto por el método Winkler modificación de azida, que se encuentra en el rango de aceptación para el método estipulado bajo los ensayos desarrollados en las condiciones ambientales del LICAM. Además se cumple con el criterio de aceptación establecido en el procedimiento de control de calidad analítico, que establece un porcentaje de error menor o igual al 10%.

6.1.3. PRECISIÓN

Se evaluó la precisión del método como repetibilidad y reproducibilidad (entre analistas y días). Las Tablas 10, 11, 12, 13, 14 y 15 a nivel general indican que el parámetro estadístico precisión definiéndolo en términos de %CV promedio para los distintos niveles de concentraciones determinadas y muestras, cumple con el criterio de aceptación estipulado en el procedimiento de control de calidad analítico del laboratorio de investigación y calidad ambiental (LICAM), el cual establece que la precisión en términos de % de coeficiente de variación debe ser menor al 10%, por lo tanto se acepta que el método de análisis es preciso. Además, la precisión del método se ajusta a lo establecido en la AOAC, como se establece en la tabla 4.

Tabla 10. Repetibilidad de resultados de medición de oxígeno a las diferentes temperaturas de saturación Analista 1.

PRECISIÓN - ESTANDARES ANALISTA 1												
ENSAYO	RANGO BAJO (20 °C)				RANGO MEDIO (30 °C)				RANGO ALTO (40°C)			
	mg O ₂ /L	χ	S	%CV	mg O ₂ /L	χ	S	%CV	mg O ₂ /L	χ	S	%CV
Día 1	9,07	8,81	0,06	0,69	7,54	7,21	0,05	0,66	6,40	6,31	0,07	1,11
Día 2		8,50	0,08	0,91		7,21	0,05	0,75		6,24	0,03	0,49
Día 3		8,76	0,07	0,85		7,28	0,06	0,79		6,30	0,18	2,84

Tabla 14. Reproducibilidad entre analistas de los resultados de medición de oxígeno a las diferentes temperaturas de saturación.

6.1.4. INCERTIDUMBRE

Para la determinación de la incertidumbre del método se tuvieron en cuenta las fuentes de errores establecidas en el diagrama de causa y efecto de la figura 2:

Con todas estas fuentes de errores consideradas, se calculó la incertidumbre expandida para los diferentes niveles de concentración de saturación de oxígeno a las diferentes temperaturas de trabajo, por lo tanto la expresión de los resultados quedó como se establece en la tabla 15. El cálculo y estimación de la incertidumbre de medición del método se presenta en el ANEXO 1 de manera más detallada.

Tabla 15. Reporte de incertidumbre expandida para las concentraciones de oxígeno a las temperaturas de trabajo.

REPORTE DE INCERTIDUMBRE EXPANDIDA	
RANGO BAJO (20 °C)	9,07 ± 0,36 mg O ₂ /L

RANGO MEDIO (30 °C)	7,54 ± 0,18 mg O ₂ /L
RANGO ALTO (40 °C)	6,40 ± 0,25 mg O ₂ /L

6.2. DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO

Los resultados de los ensayos realizados durante la validación del método se presentan en el anexo 2. A continuación se presenta el test de rechazo de datos y la determinación del límite de detección del método, límite de cuantificación del método, precisión (repetibilidad, reproducibilidad), exactitud (%E), porcentaje de recuperación e incertidumbre.

6.2.1. RECHAZO DE DATOS

Las Tablas 16, 17 y 18 muestran los resultados obtenidos del análisis estadístico de rechazo de datos de los estándares, muestras y adicionados ejecutados por réplicas de 5 durante tres días diferentes consecutivos por el mismo analista, y en un día por dos analistas diferentes. Los resultados no generaron ningún dato anómalo, por lo cual no fue necesario rechazo. Este criterio fue aplicado para verificar que en esta serie de datos, alguno o algunos de los valores no difirieran del resto de forma inexplicable, para ello se aplicó la prueba de Grubbs. Se aceptó la hipótesis nula (Hipótesis nula H_0 : todas las medidas proceden de la misma población) al presentarse que la prueba de Grubbs T calculado para $T_{\text{mínimo}}$ y $T_{\text{máximo}}$ en todos los ensayos son menores al T de rechazo con nivel de confianza del 95%.

Tabla 16. Análisis de rechazo de datos de los resultados de estándares.

RESULTADOS DE ESTANDARES			
	RANGO BAJO (19,8 mg O₂/L)	RANGO MEDIO (198 mg O₂/L)	RANGO ALTO (990 mg O₂/L)

	Día 1	Día 2	Día 3 - analista 1	Día 3 - analista 2	Día 1	Día 2	Día 3 - analista 1	Día 3 - analista 2	Día 1	Día 2	Día 3 - analista 1	Día 3 - analista 2
t para rechazo	1,67	1,67	1,67	1,67	1,67	1,67	1,67	1,67	1,67	1,67	1,67	1,67
Valor promedio	17,51	17,63	18,34	18,26	174,37	179,92	182,24	180,00	920,11	933,02	933,64	937,20
Valor mínimo	17,18	17,05	17,90	17,76	172,17	177,12	178,24	176,00	906,91	918,61	925,22	930,00
Valor máximo	18,14	18,73	18,86	18,60	177,18	182,12	184,24	182,00	942,93	942,64	943,25	948,00
t bajo	0,90	0,85	1,10	1,62	1,01	1,46	1,63	1,57	0,92	1,32	1,23	0,92
t alto	1,67	1,63	1,34	1,08	1,29	1,14	0,82	0,78	1,59	0,88	1,40	1,38
N° total de datos	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
N° datos OK	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Tabla 17. Análisis de rechazo de datos de los resultados de las muestras.

RESULTADOS DE MUESTRAS						
	AGUA NATURAL			AGUA RESIDUAL		
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3
t para rechazo	1,67	1,67	1,67	1,46	1,67	1,67
Valor promedio	4,23	4,20	4,08	106,26	104,16	103,34
Valor mínimo	4,03	4,03	3,90	102,80	100,43	100,94
Valor máximo	4,51	4,39	4,26	108,81	106,45	106,94
t bajo	0,95	1,29	1,34	1,32	1,59	1,00
t alto	1,29	1,48	1,34	0,98	0,97	1,50
N° total de datos	5	5	5	4	5	5
N° datos OK	5	5	5	4	5	5

Tabla 18. Análisis de rechazo de datos de los resultados de adicionados.

RESULTADOS DE ADICIONADOS		
	AGUA NATURAL + 19,8 mg O ₂ /L	AGUA RESIDUAL + 198 mg O ₂ /L

	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3
t para rechazo	1,67	1,67	1,67	1,67	1,67	1,67
Valor promedio	21,59	22,30	21,17	268,85	266,78	267,96
Valor mínimo	20,92	21,89	20,66	265,72	262,21	265,56
Valor máximo	22,00	22,61	21,75	272,94	271,83	271,56
t bajo	1,54	1,22	1,10	1,08	1,19	1,07
t alto	0,93	0,93	1,25	1,41	1,32	1,60
N° total de datos	5	5	5	5	5	5
N° datos OK	5	5	5	5	5	5

6.2.2. LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO

Los resultados obtenidos del límite de detección y cuantificación del método para la demanda bioquímica de oxígeno se muestran en la tabla 19. Para la determinación de este parámetro se realizaron 7 réplicas de una solución estándar de 1,98 mgO₂/L de glucosa – ácido glutámico, a los cuales se les aplicó la prueba de grubbs, mostrando que no existían datos anómalos. los resultados finales obtenidos fueron usados para calcular el límite de detección del método como se establece en la ecuación (9) y el límite de cuantificación del método como se indica en la ecuación (35). Así, el límite de detección del método obtenido fue de 2,34 mg O₂/L, y el límite de cuantificación del método fue de 2,63 mg O₂/L. además, se observa que la exactitud y precisión evaluada como porcentaje de error (%E) y coeficiente de variación (%CV) son menores al 10%. En el anexo (2) se muestra de manera más detallada los resultados de estos parámetros de validación.

Tabla 19. Análisis de rechazo de datos y resultados del límite de detección y cuantificación del método.

1,98 mg O ₂ /L	mg O ₂ /L
Promedio	2,21
desviación estándar	0,04

% coef de variación	1,92
T para Rechazo	1,94
Valor mínimo	2,14
Valor máximo	2,26
T bajo	1,49
T alto	1,35
T PARA L.D.M	3,14
L.D.M	2,34
T PARA L.C.M	10,00
L.C.M	2,63

6.2.3. EXACTITUD

La exactitud fue evaluada como porcentaje de error (%E) para los diferentes rangos de concentración (19,8, 198 y 990 mg O₂/L) y como porcentaje de recuperación. Cada uno de los análisis se realizaron por réplicas de cinco (5)

Tabla 20. Porcentajes de error obtenidos para los diferentes rangos de concentración evaluados.

EXACTITUD ANALISTA 1									
ENSAYOS	RANGO BAJO (19,8 mg O ₂ /L)			RANGO MEDIO (198 mg O ₂ /L)			RANGO ALTO (990 mg O ₂ /L)		
	mg O ₂ /L	%Error	%Error prom	mg O ₂ /L	%E	%Error prom	mg O ₂ /L	%E	%Error prom
Día 1	19,8	11,55	9,97	198	11,93	9,67	990	7,06	6,17

Día 2		10,97			9,13			5,76	
Día 3		7,39			7,96			5,69	
EXACTITUD ANALISTA 2									
ENSAYOS	RANGO BAJO (19,8 mg O₂/L)			RANGO MEDIO (198 mg O₂/L)			RANGO ALTO (990 mg O₂/L)		
	mg O₂/L	%Error	%Error prom	mg O₂/L	%Error	%Error prom	mg O₂/L	%Error	%Error prom
Día 3, ANALISTA 2	19,8	7,76	7,76	198	9,09	9,09	990,00	5,33	5,33

Se obtuvieron porcentajes de errores promedio no mayor a 11,93 % para los estándares evaluados (Tabla 20). Indicando que el procedimiento analítico empleado tiene buena capacidad para determinar cuantitativamente la demanda bioquímica de oxígeno por el método de la prueba de los cinco días, que se encuentra en el rango de aceptación para el método estipulado bajo los ensayos desarrollados en las condiciones ambientales del LICAM. Además se cumple con el criterio de aceptación establecido en el procedimiento de control de calidad analítico, que establece un porcentaje de error menor o igual al 15,40% para este parámetro.

6.2.4. PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN

Se realizaron réplicas de cinco (5) para cada uno de los días, los resultados se encuentran de manera detallada en el ANEXO 2.

Tabla 21. Porcentajes de recuperación obtenidos para los adicionados evaluados en agua natural y residual.

PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN (%R)		
ENSAYO	AGUA NATURAL + 19,8 mg O₂/L	AGUA RESIDUAL + 198 mg O₂/L

	%R	
Día 1	87,68	82,11
Día 2	91,42	82,13
Día 3	86,29	83,14
%R promedio	88,46	82,46

Los resultados obtenidos de porcentaje de recuperación como se muestra en la tabla 21, para muestras de aguas natural y residual se encuentran dentro del intervalo de aceptación de AOAC entre el 80- 110 % (Tabla 3). Lo cual indica que el método no presenta pérdidas de analito (<80%) o interferencia de matriz (>110%). Además, los resultados de los porcentajes de recuperación, se encuentran dentro de los criterios establecidos por laboratorio de investigación y calidad ambiental (LICAM) en el procedimiento de control de calidad analítica, el cual establece un rango de porcentaje de recuperación entre el 70 y el 130 %.

6.2.5. PRECISIÓN

Se evaluó la precisión del método como repetibilidad y reproducibilidad (entre analistas y días). Las Tablas 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28 y 29 a nivel general indican que el parámetro estadístico precisión definiéndolo en términos de %CV promedio para los distintos niveles de concentraciones determinadas y muestras, cumple con el criterio de aceptación estipulado en el procedimiento de control de calidad analítico del laboratorio de investigación y calidad ambiental (LICAM), el cual establece que la precisión en términos de % de coeficiente de variación debe ser menor al 10%, por lo tanto se acepta que el método de análisis es preciso. Además, la precisión del método se ajusta a los criterios establecidos por la AOAC, como se establece en la tabla 4.

Tabla 22. Repetibilidad de resultados de estándares Analista 1.

PRECISIÓN - ESTANDARES ANALISTA 1												
ENSAYO	RANGO BAJO (19,8 mg O ₂ /L)				RANGO MEDIO (198 mg O ₂ /L)				RANGO ALTO (990 mg O ₂ /L)			
	mg O ₂ /L	X	S	%CV	mg O ₂ /L	X	S	%CV	mg O ₂ /L	X	S	%CV
Día 1	19,8	17,51	0,37	2,14	198	174,37	2,17	1,24	990	920,11	14,33	1,56
Día 2		17,63	0,68	3,84		179,92	1,92	1,07		933,02	10,91	1,17
Día 3		18,34	0,39	2,15		182,24	2,45	1,35		933,64	6,85	0,73

Tabla 23. Repetibilidad de resultados de estándares Analista 2.

PRECISIÓN - ESTANDARES ANALISTA 2												
ENSAYO	RANGO BAJO (19,8 mg O ₂ /L)				RANGO MEDIO (198 mg O ₂ /L)				RANGO ALTO (990 mg O ₂ /L)			
	mg O ₂ /L	X	S	%CV	mg O ₂ /L	X	s	%CV	mg O ₂ /L	X	S	%CV
Día 3	19,8	18,26	0,31	1,70	198	180,00	2,55	1,42	990	937,20	7,82	0,83

Tabla 24. Repetibilidad de resultados de muestras Analista 1.

PRECISIÓN - MUESTRA ANALISTA 1		
ENSAYO	AGUA NATURAL (mg O ₂ /L)	AGUA RESIDUAL (mg O ₂ /L)

	X	S	%CV	X	S	%CV
Día 1	4,23	0,22	5,09	106,26	2,62	2,46
Día 2	4,20	0,13	3,11	104,16	2,35	2,25
Día 3	4,08	0,13	3,29	103,34	2,40	2,33

Tabla 25. Repetibilidad de resultados de adiconados Analista 1.

PRECISIÓN - ADICIONADOS ANALISTA 1						
ENSAYO	AGUA NATURAL + 19,8 (mg O ₂ /L)			AGUA RESIDUAL + 198 (mg O ₂ /L)		
	X	S	%CV	X	S	%CV
Día 1	21,59	0,44	2,03	268,85	2,90	1,08
Día 2	22,30	0,34	1,51	266,78	3,84	1,44
Día 3	21,17	0,46	2,18	267,96	2,25	0,84

6.2.6. INCERTIDUMBRE

Para la determinación de la incertidumbre del método se tuvieron en cuenta las fuentes de errores establecidas en el diagrama de causa y efecto de la figura 3:

Con todas estas fuentes de errores consideradas, se calculó la incertidumbre expandida para los diferentes niveles de concentración (19,8, 198 y 990 mg O₂/L), por lo tanto la expresión de los resultados quedó como se establece en la tabla 30. El cálculo y estimación de la incertidumbre de medición del método se presenta en el ANEXO 2 de manera más detallada.

Tabla 30. Reporte de incertidumbre expandida para las concentraciones de los diferentes rangos.

REPORTE DE INCERTIDUMBRE EXPANDIDA	
RANGO BAJO (19,8 mg O ₂ /L)	19,8 ± 2,68 mg O ₂ /L
RANGO MEDIO (198 mg O ₂ /L)	198 ± 24,95 mg O ₂ /L
RANGO ALTO (990 mg O ₂ /L)	990 ± 119,39 mg O ₂ /L

7. CONCLUSIONES

- Se validaron las técnicas analíticas para la determinación de oxígeno disuelto mediante el método Winkler modificación de azida, SM: 4500 – O C. y demanda bioquímica de oxígeno por el método de la prueba de los cinco días SM: 5210 B, estas cumplieron con todos los criterios estadísticos establecidos en el procedimiento de control de calidad analítico del laboratorio de investigación y calidad ambiental. Además, los resultados obtenidos de las validaciones se ajustaron a los criterios planteados por la AOAC, lo que demuestra que los métodos pueden ser aplicados bajo las condiciones operativas del laboratorio obteniendo así resultados veraces y confiables.
- Los resultados de precisión como repetibilidad y reproducibilidad entre días y analistas, en términos de porcentaje de coeficiente de variación (%CV) fueron menores o iguales al 10%, cumpliendo así con lo estipulado en el procedimiento de control de calidad analítica.

- Los resultados de exactitud en términos de porcentaje de error para la validación del método de análisis para la determinación de oxígeno disuelto fue menor o igual al 10%, cumpliendo así con lo estipulado en el procedimiento de control de calidad analítica del laboratorio de investigación y calidad ambiental.
- Los resultados de exactitud en términos de porcentaje de error para la validación del método de análisis para la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno fue menor o igual al 15,40 %, cumpliendo así con lo estipulado en el procedimiento de control de calidad analítica del laboratorio de investigación y calidad ambiental.
- Para la validación de la demanda bioquímica de oxígeno. La exactitud, definiéndola como porcentaje de recuperación, presentó para los adicionados de agua natural valores entre 83,74% y 93,00%. Y para los adicionados de agua residual, valores entre 79,82% y 84,96%. Cumpliendo con el rango propuesto en el procedimiento de control de calidad analítico, que es del 70 al 130%. Además, cumple con los criterios de recuperación establecidos por la AOAC.
- El límite de cuantificación del método determinado para la validación de la demanda bioquímica de oxígeno, fue de 2,63 mg O₂/L. siendo este el mínimo valor que el método puede cuantificar con suficiente exactitud y precisión, para cumplir con los criterios establecidos en el procedimiento de control de calidad del laboratorio de investigación y calidad ambiental.

8. BIBLIOGRAFÍA

- AEFI, A. (2001). *Validación de métodos analíticos* (1ra Ed). España: AEFI.
- Arias Luisa. (2014). *Validación de un método analítico para la cuantificación de Vitamina A en alimentos, por cromatografía líquida de alta resolución y su determinación en guayaba fresa (Psidium cattleianum sabine)*. Universidad Rafael Landívar, Guatemala de la Asunción.
- Arnold Guardo, A. G. (2018). *Procedimiento de Control de calidad analítico LICAM-PTA-001*. Laboratorio de investigación y calidad ambiental, Montería - Córdoba.
- Baird, R. B., Eaton, A. D., & Rice, editors E. W. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23rd Edition* (Edición: 23). Washington, DC: American Water Works Association.
- Brezonik, P., & Arnold, W. (2011). *Water Chemistry: An Introduction to the Chemistry of Natural and Engineered Aquatic Systems*. Oxford University Press, USA.
- Bridgewater, L., Association, A. P. H., Association, A. W. W., & Federation, W. E. (2012). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association.
- Coy Gustavo, C. G. (2006). *Estandarización de métodos analíticos* (N.º 2; p. 12). Bogotá: Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM).
- Eurachem. (2012). *Cuantificación de la incertidumbre en medidas analíticas* (3ra Ed). España: Eurolab.
- Eurachem. (2014). *La adecuación al uso de los métodos analíticos. Una guía de laboratorio para validación de métodos analíticos y temas relacionados*. (2 da edición). Eurolab.
- Incertidumbre de la Medición: Teoría y Práctica*. (s. f.). 88.
- Jhon Restrepo, R. D. R. S. (2016). *Validación de un método analítico para la determinación gravimétrica de sólidos totales y determinación volumétrica de sólidos sedimentables en agua superficial y residual urbana*. Universidad de Córdoba, Montería - Córdoba.
- Joshi, P. B. (2016). *Experiments in Engineering Chemistry*. Unknown Publisher.
- Juan Jácome. (2014). *Validación de métodos analíticos para la determinación de la demanda química de oxígeno (rango alto, rango medio, rango bajo), sólidos disueltos y sólidos totales suspendidos en matrices de agua clara y residual en el centro de investigaciones y control ambiental «CICAM»*. Universidad Técnica de Ambato, Ambato.

Kutz, M. (Ed.). (2016). *Handbook of Measurement in Science and Engineering* (Edición: 1). Hoboken, New Jersey: Wiley.

Kutz, M. (Ed.). (2018). *Handbook of Environmental Engineering* (Edición: 1). Hoboken, NJ: Wiley.

Manahan, & E, S. (2010). *Environmental chemistry* (9th ed). Recuperado de <http://gen.lib.rus.ec/book/index.php?md5=453176e78aa5e201bb759842bad0d289>

María Grau Saenz, M. G. R. (2006). *Riesgos ambientales en la industria* (1ra ed.). España: UNED.

Miller, J. N., & Miller, J. C. (2002). *Estadística y quimiometría para química analítica*. Pearson Educación.

Musy, A., & Higy, C. (2010). *Hydrology: A Science of Nature* (1.^a ed.). Recuperado de <http://gen.lib.rus.ec/book/index.php?md5=0CF30909E04BFF548DAA88ECD7C9550F>

Never Hernandez, N. H. (2018). *Validación de la metodología analítica para la determinación de DQO en agua natural y residual por los métodos colorimétricos y titulométricos (reflujo cerrado) En el laboratorio de investigación y calidad ambiental del SENA - Regional Córdoba*. Universidad de Córdoba, Montería - Córdoba.

Nielsen, S. S. (2017). *Food Analysis* (Fifth edition). Springer.

Sawyer, C. N., McCarty, P. L., & Parkin, G. F. (2002). *Chemistry for Environmental Engineering and Science* (5 edition). Boston: McGraw-Hill Education.

Skoog, D. (2017). *Fundamentos de química analítica - 9ª edición* (Edición: 9 ed). Cengage Learning.

9. ANEXOS

9.1. ANEXO 1 – RESULTADOS VALIDACIÓN DE OXÍGENO DISUELTO

Tabla 31. Rechazo de datos para resultados de réplicas de agua destilada saturada con oxígeno a 20 °C.

Agua Destilada Aireada a 20 °C				
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 3 ⁽¹⁾
1	8,80	8,40	8,66	8,78
2	8,80	8,60	8,88	8,78
3	8,80	8,60	8,74	8,80
4	8,70	8,46	8,76	8,76
5	8,84	8,48	8,78	8,82
6	8,84	8,44	8,68	8,84
7	8,90	8,50	8,80	8,90
promedio	8,81	8,50	8,76	8,81
Valor Mínimo	8,70	8,40	8,66	8,76
Valor Máximo	8,90	8,60	8,88	8,90
t bajo	1,83	1,26	1,31	1,08
t alto	1,45	1,34	1,65	1,87
t para Rechazo	1,94	1,94	1,94	1,94
Nro total de datos	7	7	7	7
Nro datos OK	7	7	7	7

(1) Resultados del analista 2

Tabla 32. Rechazo de datos para resultados de réplicas de agua destilada saturada con oxígeno a 30 °C.

Agua Destilada Aireada a 30 °C				
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 3⁽¹⁾
1	7,20	7,21	7,34	7,32
2	7,30	7,21	7,20	7,34
3	7,20	7,15	7,36	7,32
4	7,20	7,15	7,24	7,34
5	7,22	7,21	7,28	7,34
6	7,22	7,31	7,26	7,28
7	7,14	7,23	7,24	7,26
promedio	7,21	7,21	7,28	7,31
Valor Mínimo	7,14	7,15	7,20	7,26
Valor Máximo	7,30	7,31	7,36	7,34
t bajo	1,51	1,11	1,29	1,69
t alto	1,87	1,85	1,49	0,80
t para Rechazo	1,94	1,94	1,94	1,94
Nro total de datos	7	7	7	7
Nro datos OK	7	7	7	7

(1) Resultados del analista 2

Tabla 33. Rechazo de datos para resultados de réplicas de agua destilada saturada con oxígeno a 40 °C.

Agua Destilada Aireada a 40 °C				
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 3⁽¹⁾
1	6,32	6,25	6,40	6,38
2	6,26	6,29	6,54	6,36
3	6,40	6,21	6,40	6,36
4	6,24	6,23	6,00	6,28
5	6,28	6,23	6,32	6,32
6	6,24	6,21	6,20	6,30
7	6,40	6,27	6,18	6,28
promedio	6,31	6,24	6,30	6,33
Valor Mínimo	6,24	6,21	6,00	6,28
Valor Máximo	6,40	6,29	6,54	6,38
t bajo	0,94	1,04	1,63	1,11
t alto	1,35	1,61	1,39	1,32
t para Rechazo	1,94	1,94	1,94	1,94
Nro total de datos	7	7	7	7
Nro datos OK	7	7	7	7

(1) Resultados del analista 2

Tabla 34. Rechazo de datos para resultados de réplicas de muestra de agua natural.

Muestra de agua Natural	
RÉPLICAS	DÍA 1
1	8,00
2	7,98
3	7,94
4	7,98
5	8,00
6	7,96
7	7,94
promedio	7,97
Valor Mínimo	7,94
Valor Máximo	8,00
t bajo	1,23
t alto	1,12
t para Rechazo	1,94
Nro total de datos	7
Nro datos OK	7

Tabla 35. Rechazo de datos para resultados de réplicas de muestra de agua residual.

Muestra de agua Residual	
RÉPLICAS	DÍA 1
1	1,00
2	1,00
3	1,02
4	1,00
5	1,00
6	1,02
7	1,02
promedio	1,01
Valor Mínimo	1,00
Valor Máximo	1,02
t bajo	0,80
t alto	1,07
t para Rechazo	1,94
Nro total de datos	7
Nro datos OK	7

Tabla 36. Resultados obtenidos de la validación de oxígeno disuelto.

ENSAYOS	TEMPERATURAS DE EVALUACIÓN DEL OXÍGENO DISUELTO			MUESTRAS	
	20 °C	30°C	40°C	MAN	MAR
DÍA 1	8,80	7,20	6,32	8,00	1,00
	8,80	7,30	6,26	7,98	1,00
	8,80	7,20	6,40	7,94	1,02
	8,70	7,20	6,24	7,98	1,00
	8,84	7,22	6,28	8,00	1,00
	8,84	7,22	6,24	7,96	1,02
	8,90	7,14	6,40	7,94	1,02
DÍA 2	8,40	7,21	6,25	N.A	N.A
	8,60	7,21	6,29	N.A	N.A
	8,60	7,15	6,21	N.A	N.A
	8,46	7,15	6,23	N.A	N.A
	8,48	7,21	6,23	N.A	N.A
	8,44	7,31	6,21	N.A	N.A
	8,50	7,23	6,27	N.A	N.A
DÍA 3	8,66	7,34	6,40	N.A	N.A
	8,88	7,20	6,54	N.A	N.A
	8,74	7,36	6,40	N.A	N.A
	8,76	7,24	6,00	N.A	N.A
	8,78	7,28	6,32	N.A	N.A
	8,68	7,26	6,20	N.A	N.A
	8,80	7,24	6,18	N.A	N.A
DÍA 3 ANALISTA 2	8,78	7,32	6,38	N.A	N.A
	8,78	7,34	6,36	N.A	N.A
	8,80	7,32	6,36	N.A	N.A
	8,76	7,34	6,28	N.A	N.A
	8,82	7,34	6,32	N.A	N.A
	8,84	7,28	6,30	N.A	N.A
	8,90	7,26	6,28	N.A	N.A

Tabla 37. Resultados de exactitud para las temperaturas de saturación de oxígeno evaluadas.

EXACTITUD ANALISTA 1												
ENSAYOS	RANGO BAJO (Temperatura 20°C)			RANGO MEDIO (Temperatura 30°C)			RANGO ALTO (Temperatura 40°C)					
	mg O ₂ /L	% Error	% Error prom	mg O ₂ /L	% Error	% Error prom	mg O ₂ /L	% Error	% Error prom			
DÍA 1	8,80	2,95	4,18	7,20	4,51	4,06	6,32	1,21	1,82			
	8,80	2,95		7,30	3,19		6,26	2,14				
	8,80	2,95		7,20	4,51		6,40	0,04				
	8,70	4,06		7,20	4,51		6,24	2,46				
	8,84	2,51		7,22	4,25		6,28	1,83				
	8,84	2,51		7,22	4,25		6,24	2,46				
	8,90	1,85		7,14	5,31		6,40	0,04				
DÍA 2	8,40	7,37		7,21	4,35		6,25	2,29				
	8,60	5,16		7,21	4,35		6,29	1,67				
	8,60	5,16		7,15	5,15		6,21	2,92				
	8,46	6,70		7,15	5,15		6,23	2,61				
	8,48	6,48		7,21	4,35		6,23	2,61				
	8,44	6,92		7,31	3,03		6,21	2,92				
	8,50	6,26		7,23	4,09		6,27	1,98				
DÍA 3	8,66	4,50		7,34	2,59		6,40	0,11				
	8,88	2,07		7,20	4,45		6,54	2,30				
	8,74	3,62		7,36	2,33		6,40	0,11				
	8,76	3,39		7,24	3,92		6,00	6,15				
	8,78	3,17		7,28	3,39		6,32	1,14				
	8,68	4,28		7,26	3,65		6,20	3,02				
	8,80	2,95		7,24	3,92		6,18	3,33				
EXACTITUD ANALISTA 2												
ENSAYOS	RANGO BAJO (Temperatura 20°C)			RANGO MEDIO (Temperatura 30°C)			RANGO ALTO (Temperatura 40°C)					
	mg O ₂ /L	% Error	% Error prom	mg O ₂ /L	% Error	% Error prom	mg O ₂ /L	% Error	% Error prom			
DÍA 3 ANALISTA 2	8,78	3,17	2,83	7,32	2,92	3,00	6,38	0,27	1,12			
	8,78	3,17		7,34	2,66		6,36	0,58				
	8,80	2,95		7,32	2,92		6,36	0,58				
	8,76	3,39		7,34	2,66		6,28	1,83				
	8,82	2,73		7,34	2,66		6,32	1,21				
	8,84	2,51		7,28	3,45		6,30	1,52				
	8,90	1,85		7,26	3,72		6,28	1,83				

Tabla 38. Resultados de precisión como repetibilidad y reproducibilidad entre días para las temperaturas de saturación de oxígeno evaluadas.

PRECISIÓN Repetibilidad y Reproducibilidad entre días- ESTÁNDARES ANALISTA 1																	
ENSAYOS	RANGO BAJO (Temperatura 20°C)					RANGO MEDIO (Temperatura 30°C)					RANGO ALTO (Temperatura 40°C)						
	mg O ₂ /L	X	s	%CV	%CV	mg O ₂ /L	X	s	%CV	%CV	mg O ₂ /L	X	s	%CV	%CV		
DÍA 1	8,80	8,81	0,06	0,69	1,79	7,20	7,21	0,05	0,66	0,83	6,32	6,31	0,07	1,11	1,76		
	8,80					7,30					6,26						
	8,80					7,20					6,40						
	8,70					7,20					6,24						
	8,84					7,22					6,28						
	8,84					7,22					6,24						
	8,90					7,14					6,40						
	8,40					7,21					6,25						
DÍA 2	8,60	8,50	0,08	0,91		7,21	7,21	0,05	0,75		0,83	6,29	6,24	0,03		0,49	1,76
	8,60					7,15						6,21					
	8,46					7,15						6,23					
	8,48					7,21						6,23					
	8,44					7,31						6,21					
	8,50					7,23						6,27					
	8,66					7,34						6,40					
	8,88					7,20						6,54					
DÍA 3	8,74	8,76	0,07	0,85		7,36	7,28	0,06	0,79		0,83	6,40	6,30	0,18		2,84	1,76
	8,76					7,24						6,00					
	8,78					7,28						6,32					
	8,68					7,26						6,20					
	8,80					7,24						6,18					

Tabla 39. Resultados de precisión como reproducibilidad entre analistas para las temperaturas de saturación de oxígeno evaluadas.

PRECISIÓN Reproducibilidad entre analistas- ESTÁNDARES ANALISTA 2															
ENSAYOS	RANGO BAJO (Temperatura 20°C)					RANGO MEDIO (Temperatura 30°C)					RANGO ALTO (Temperatura 40°C)				
	mg O ₂ /L	X	s	%CV	%CV	mg O ₂ /L	X	s	%CV	%CV	mg O ₂ /L	X	s	%CV	%CV
DÍA 3 ANALISTA 2	8,78	8,81	0,05	0,54	0,75	7,32	7,31	0,03	0,44	0,66	6,38	6,33	0,04	0,65	1,99
	8,78					7,34					6,36				
	8,80					7,32					6,36				
	8,76					7,34					6,28				
	8,82					7,34					6,32				
	8,84					7,28					6,30				
	8,90					7,26					6,28				
	DÍA 3 ANALISTA 1					8,66					8,76				
8,88		7,20	6,54												
8,74		7,36	6,40												
8,76		7,24	6,00												
8,78		7,28	6,32												
8,68		7,26	6,20												
8,80		7,24	6,18												

Tabla 40. Resultados de precisión como repetibilidad para muestras.

PRECISIÓN MUESTRAS								
ENSAYOS	MUESTRA DE AGUA NATURAL				MUESTRA DE AGUA RESIDUAL			
	mg O ₂ /L	X	s	%CV	mg O ₂ /L	X	s	%CV
DÍA 1	8,00	7,97	0,03	0,32	1,00	1,01	0,01	1,06
	7,98				1,00			
	7,94				1,02			
	7,98				1,00			
	8,00				1,00			
	7,96				1,02			
	7,94				1,02			

Tabla 41. Fuentes de incertidumbre asociadas a la determinación de oxígeno disuelto para la temperatura de 20°C.

OXÍGENO DISUELTO A TEMPERATURA DE 20 °C			
	Fuente	Incertidumbre estándar relativa (Ur)	Incertidumbre estándar relativa al cuadrado (Ur)²
INCERTIDUMBRE ASOCIADA A PREPARACIÓN DE TITULANTE	Incertidumbre pesaje de tiosulfato de sodio	1,64,E-05	2,70E-10
	Incertidumbre pureza de tiosulfato de sodio	4,66,E-03	2,17E-05
	Incertidumbre pesaje de hidroxido de sodio	2,48,E-04	6,14E-08
	Incertidumbre pureza de hidroxido de sodio	4,07,E-03	1,66E-05
	Incertidumbre matraz donde se preparó el titulante	3,47,E-04	1,20E-07
	Incertidumbre de la bureta	1,18,E-03	1,38E-06
INCERTIDUMBRE ASOCIADA A LOS REACTIVOS USADOS PARA FIJACIÓN DE OXÍGENO	Incertidumbre de alicuota de solución de sulfato manganoso	5,16,E-04	2,66E-07
	Incertidumbre de alicuota de solución de alcali-yoduro-azida	4,40,E-04	1,94E-07
	Incertidumbre de alicuota de Ácido sulfúrico concentrado	4,89,E-04	2,39E-07
INCERTIDUMBRE ASOCIADA A PREPARACIÓN DE ESTÁNDAR DE KH(IO3)2	Incertidumbre pesaje de yodato ácido de potasio	1,22,E-04	1,50E-08
	Incertidumbre pureza de yodato ácido de potasio	2,32,E-03	5,38E-06
	Incertidumbre matraz donde se preparó el estándar	3,61,E-04	1,30E-07
	Incertidumbre de Alicuota titulada	4,66,E-03	2,17E-05
INCERTIDUMBRE ASOCIADA A LA REPRODUCIBILIDAD	Incertidumbre Reproducibilidad entre días	1,79,E-02	3,22E-04
		Sumatoria	3,90E-04
		Raíz	1,97E-02
		Incertidumbre final expandida	0,36
		El valor es reportado con un factor de cobertura K=2 como	9,07+/- 0,36 mg O2/L

Tabla 42. Fuentes de incertidumbre asociadas a la determinación de oxígeno disuelto para la temperatura de 30°C.

OXÍGENO DISUELTO A TEMPERATURA DE 30 °C			
	Fuente	Incertidumbre estándar relativa (UR)	Incertidumbre estándar relativa al cuadrado (UR)²
INCERTIDUMBRE ASOCIADA A PREPARACIÓN DE TITULANTE	Incertidumbre pesaje de tiosulfato de sodio	1,64,E-05	2,70E-10
	Incertidumbre pureza de tiosulfato de sodio	4,66,E-03	2,17E-05
	Incertidumbre pesaje de hidróxido de sodio	2,48,E-04	6,14E-08
	Incertidumbre pureza de hidróxido de sodio	4,07,E-03	1,66E-05
	Incertidumbre matraz donde se preparó el titulante	3,47,E-04	1,20E-07
	Incertidumbre de la bureta	1,18,E-03	1,38E-06
INCERTIDUMBRE ASOCIADA A LOS REACTIVOS USADOS PARA FIJACIÓN DE OXÍGENO	Incertidumbre de alícuota de solución de sulfato manganoso	5,16,E-04	2,66E-07
	Incertidumbre de alícuota de solución de alcali-yoduro-azida	4,40,E-04	1,94E-07
	Incertidumbre de alícuota de Ácido sulfúrico concentrado	4,89,E-04	2,39E-07
INCERTIDUMBRE ASOCIADA A PREPARACIÓN DE ESTÁNDAR DE KH(IO3)2	Incertidumbre pesaje de yodato ácido de potasio	1,22,E-04	1,50E-08
	Incertidumbre pureza de yodato ácido de potasio	2,32,E-03	5,38E-06
	Incertidumbre matraz donde se preparó el estándar	3,61,E-04	1,30E-07
	Incertidumbre de Alícuota titulada	4,66,E-03	2,17E-05
INCERTIDUMBRE ASOCIADA A LA REPRODUCIBILIDAD	Incertidumbre Reproducibilidad entre días	8,30,E-03	6,89E-05
		Sumatoria	1,37E-04
		Raíz	1,17E-02
		Incertidumbre final expandida	0,18
		El valor es reportado con un factor de cobertura K=2 como	7,54 +/- 0,18 mg O2/L

Tabla 43. Fuentes de incertidumbre asociadas a la determinación de oxígeno disuelto para la temperatura de 40°C.

OXÍGENO DISUELTO A TEMPERATURA DE 40 °C			
	Fuente	Incertidumbre estándar relativa (Ur)	Incertidumbre estándar relativa al cuadrado (Ur) ²
INCERTIDUMBRE ASOCIADA A PREPARACIÓN DE TITULANTE	Incertidumbre pesaje de tiosulfato de sodio	1,64,E-05	2,70E-10
	Incertidumbre pureza de tiosulfato de sodio	4,66,E-03	2,17E-05
	Incertidumbre pesaje de hidróxido de sodio	2,48,E-04	6,14E-08
	Incertidumbre pureza de hidróxido de sodio	4,07,E-03	1,66E-05
	Incertidumbre matraz donde se preparó el titulante	3,47,E-04	1,20E-07
	Incertidumbre de la bureta	1,18,E-03	1,38E-06
INCERTIDUMBRE ASOCIADA A LOS REACTIVOS USADOS PARA FIJACIÓN DE OXÍGENO	Incertidumbre de alícuota de solución de sulfato manganoso	5,16,E-04	2,66E-07
	Incertidumbre de alícuota de solución de alcali-yoduro-azida	4,40,E-04	1,94E-07
	Incertidumbre de alícuota de Ácido sulfúrico concentrado	4,89,E-04	2,39E-07
INCERTIDUMBRE ASOCIADA A PREPARACIÓN DE ESTÁNDAR DE KH(IO3)2	Incertidumbre pesaje de yodato ácido de potasio	1,22,E-04	1,50E-08
	Incertidumbre pureza de yodato ácido de potasio	2,32,E-03	5,38E-06
	Incertidumbre matraz donde se preparó el estándar	3,61,E-04	1,30E-07
	Incertidumbre de Alícuota titulada	4,66,E-03	2,17E-05
INCERTIDUMBRE ASOCIADA A LA REPRODUCIBILIDAD	Incertidumbre Reproducibilidad entre días	1,76,E-02	3,09E-04
		Sumatoria	3,76E-04
		Raíz	1,94E-02
		Incertidumbre final expandida	0,25
		El valor es reportado con un factor de cobertura K=2 como	6,40 +/- 0,25 mgO2/L

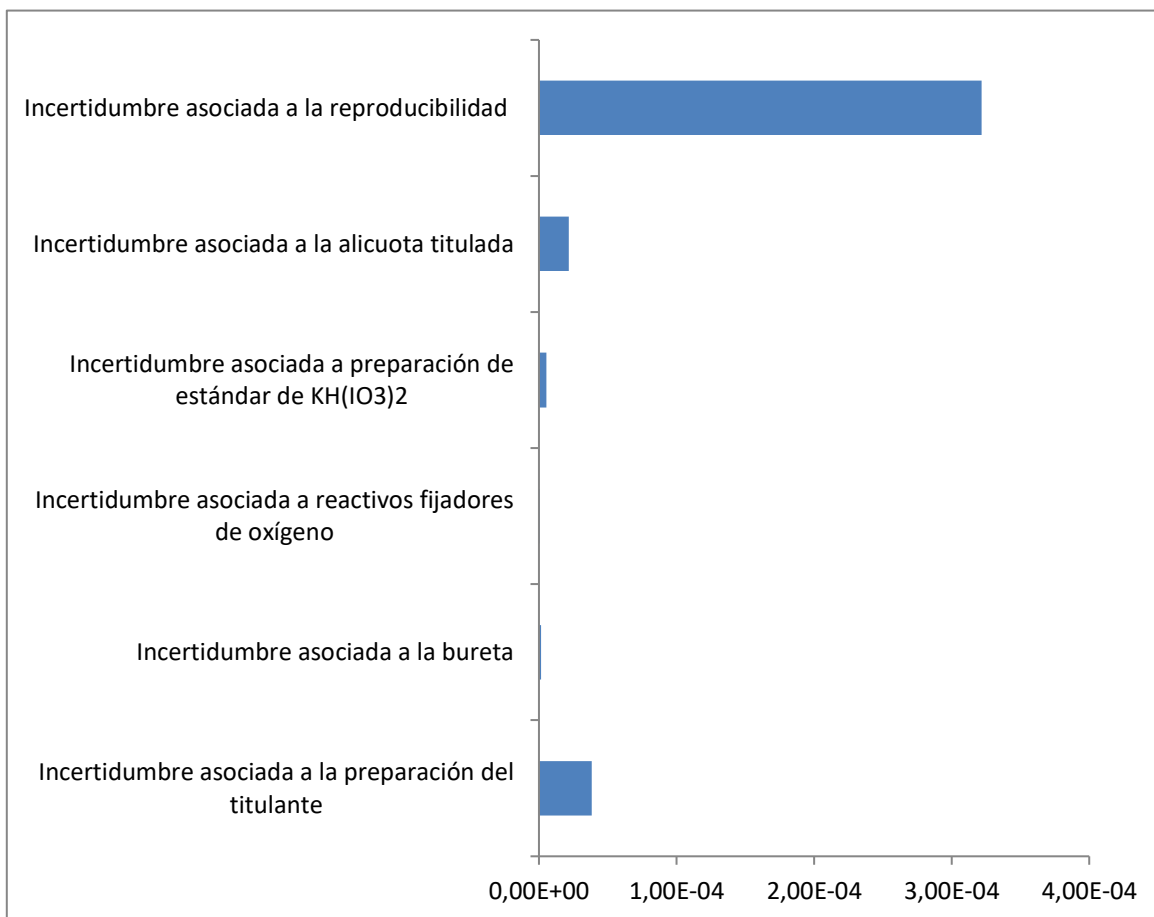


Figura 4. Contribuciones de las fuentes de incertidumbre saturación de oxígeno a 20 °C.

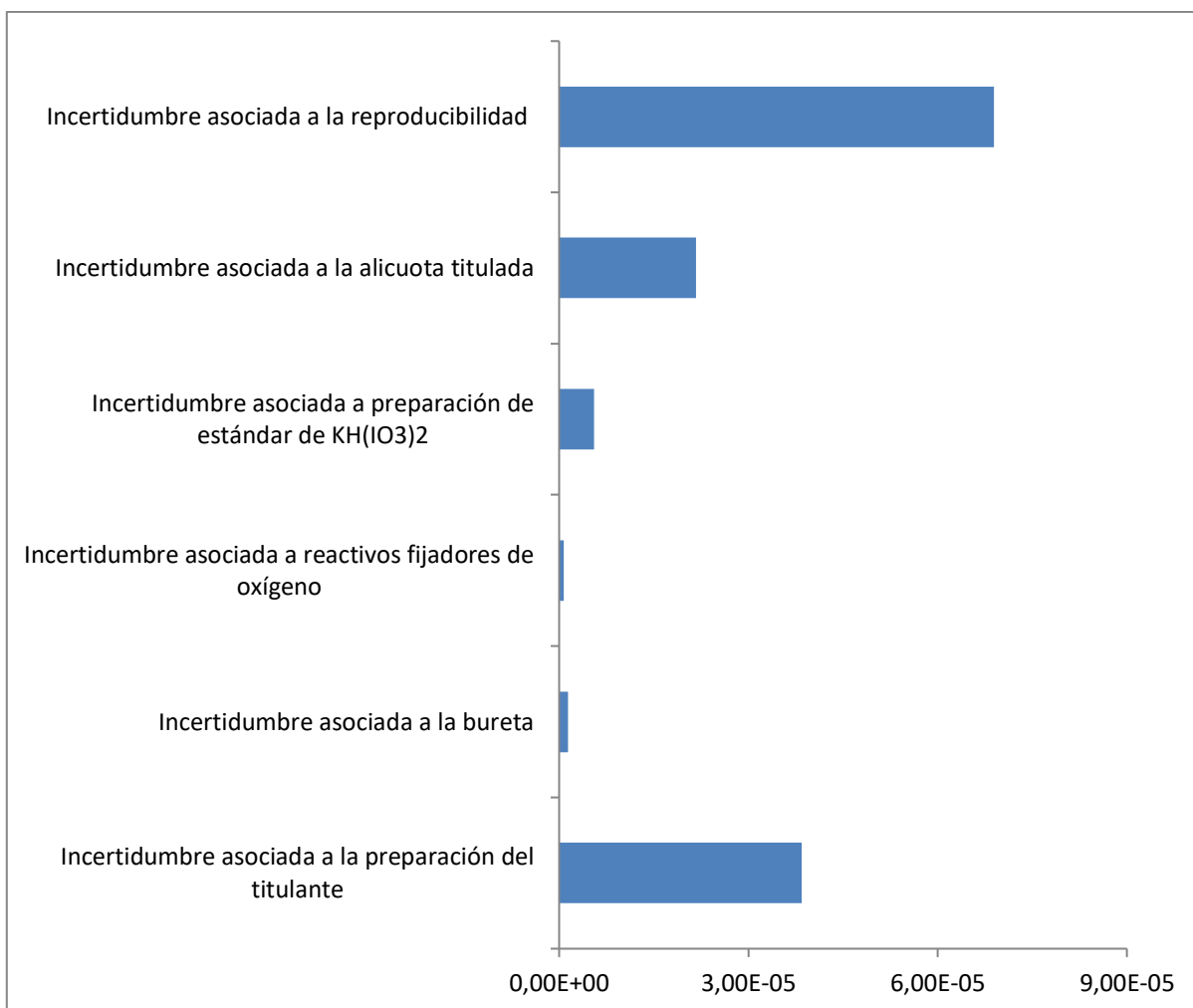


Figura 5. Contribuciones de las fuentes de incertidumbre saturación de oxígeno a 30 °C.

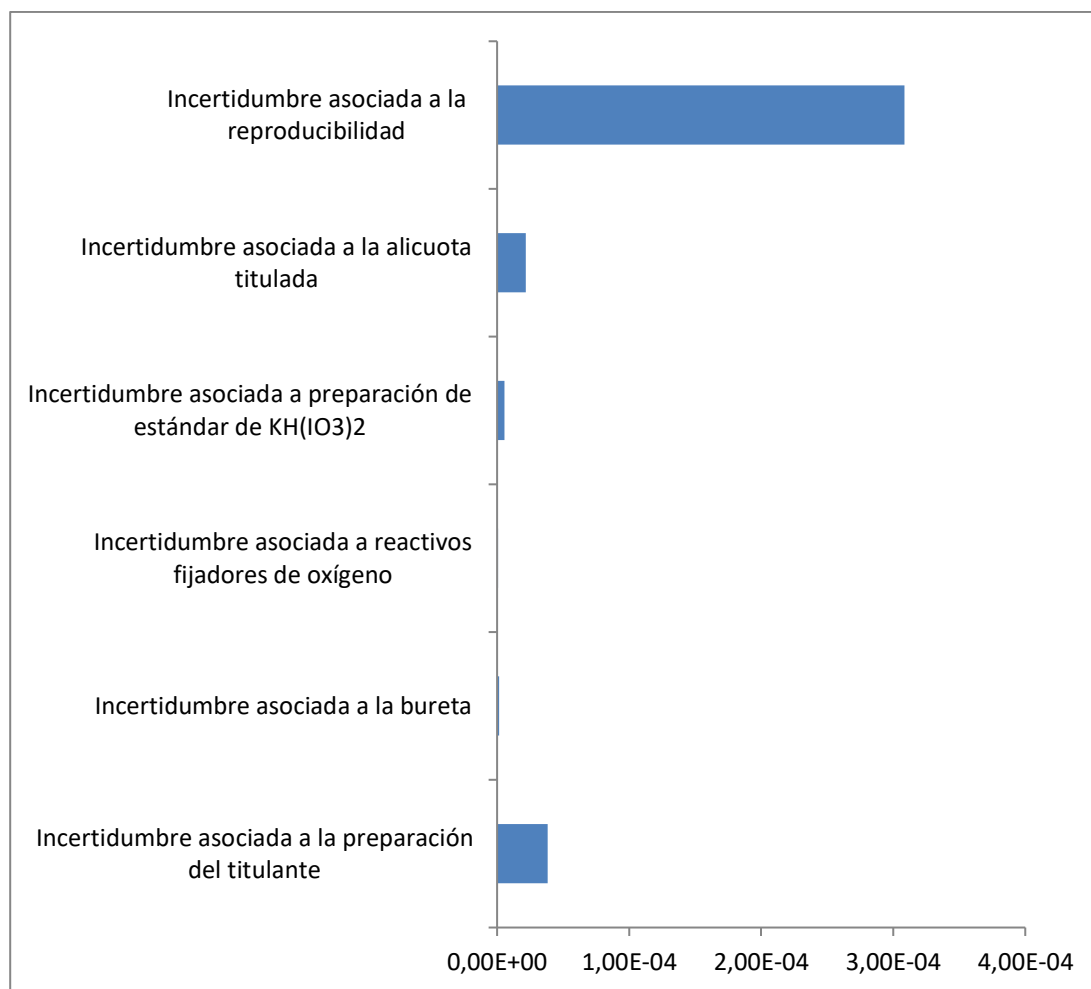


Figura 6. Contribuciones de las fuentes de incertidumbre saturación de oxígeno a 40 °C.

9.2. ANEXO 2 – RESULTADOS VALIDACIÓN DBO5

Tabla 44. Rechazo de datos para resultados de réplicas de estándar para determinación de límite de detección y cuantificación del método.

1,98 mg O₂/L	mg O₂/L	%E
1	2,22	12,3
2	2,16	9,2
3	2,24	13,3
4	2,14	8,2
5	2,26	14,3
6	2,20	11,2
7	2,20	11,2
Promedio	2,21	
desviación estándar	0,04	
% coef de variación	1,92	
T para Rechazo	1,94	
Valor mínimo	2,14	
Valor máximo	2,26	
T bajo	1,49	
T alto	1,35	
T PARA L.D.M	3,14	
L.D.M	2,34	
T PARA L.C.M	10	
L.C.M	2,63	

Tabla 45. Rechazo de datos para resultados de réplicas de estándar bajo 19,8 mg O₂/L.

ESTANDAR BAJO DE 19,80 mg O₂/L				
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 3 ⁽¹⁾
1	17,42	18,73	18,86	18,60
2	17,54	17,17	18,62	18,36
3	17,30	17,05	18,14	18,36
4	17,18	17,41	18,14	18,24
5	18,14	17,77	17,90	17,76
6				
7				
promedio	17,51	17,63	18,34	18,26
Valor Mínimo	17,18	17,05	17,90	17,76
Valor Máximo	18,14	18,73	18,86	18,60
t bajo	0,90	0,85	1,10	1,62
t alto	1,67	1,63	1,34	1,08
t para Rechazo	1,67	1,67	1,67	1,67
Nro total de datos	5	5	5	5
Nro datos OK	5	5	5	5

(1) Resultados del analista 2

Tabla 46. Rechazo de datos para resultados de réplicas de estándar medio 198 mg O₂/L.

ESTANDAR MEDIO DE 198 mg O₂/L				
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 3 ⁽¹⁾
1	172,17	182,12	182,24	176,00
2	172,17	181,12	184,24	181,00
3	175,18	177,12	184,24	182,00
4	175,17	180,12	182,24	182,00
5	177,18	179,12	178,24	179,00
6				
7				
promedio	174,37	179,92	182,24	180,00
Valor Mínimo	172,17	177,12	178,24	176,00
Valor Máximo	177,18	182,12	184,24	182,00
t bajo	1,01	1,46	1,63	1,57
t alto	1,29	1,14	0,82	0,78
t para Rechazo	1,67	1,67	1,67	1,67
Nro total de datos	5	5	5	5
Nro datos OK	5	5	5	5

(1) Resultados del analista 2

Tabla 47. Rechazo de datos para resultados de réplicas de estándar medio 990 mg O₂/L.

ESTANDAR ALTO DE 990 mg O ₂ /L				
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 3 ⁽¹⁾
1	912,91	936,63	943,25	942,00
2	924,92	942,63	925,22	948,00
3	912,90	918,61	931,23	936,00
4	906,91	924,62	937,25	930,00
5	942,93	942,64	931,25	930,00
6				
7				
promedio	920,11	933,02	933,64	937,20
Valor Mínimo	906,91	918,61	925,22	930,00
Valor Máximo	942,93	942,64	943,25	948,00
t bajo	0,92	1,32	1,23	0,92
t alto	1,59	0,88	1,40	1,38
t para Rechazo	1,67	1,67	1,67	1,67
Nro total de datos	5	5	5	5
Nro datos OK	5	5	5	5

(1) Resultados del analista 2

Tabla 48. Rechazo de datos para resultados de réplicas de muestra de agua natural.

MUESTRA DE AGUA NATURAL (mg O ₂ /L)			
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
1	4,51	4,03	3,90
2	4,03	4,15	4,02
3	4,39	4,21	4,14
4	4,03	4,39	4,08
5	4,21	4,21	4,26
6			
7			
promedio	4,23	4,20	4,08
Valor Mínimo	4,03	4,03	3,90
Valor Máximo	4,51	4,39	4,26
t bajo	0,95	1,29	1,34
t alto	1,29	1,48	1,34
t para Rechazo	1,67	1,67	1,67
Nro total de datos	5	5	5
Nro datos OK	5	5	5

Tabla 49. Rechazo de datos para resultados de réplicas de muestra de agua residual.

MUESTRA DE AGUA RESIDUAL (mg O₂/L)			
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
1	108,81	103,44	106,94
2	102,80	105,25	102,14
3	105,81	105,25	104,54
4	107,61	100,43	102,14
5		106,45	100,94
6			
7			
promedio	106,26	104,16	103,34
Valor Mínimo	102,80	100,43	100,94
Valor Máximo	108,81	106,45	106,94
t bajo	1,32	1,59	1,00
t alto	0,98	0,97	1,50
t para Rechazo	1,46	1,67	1,67
Nro total de datos	4	5	5
Nro datos OK	4	5	5

Tabla 50. Rechazo de datos para resultados de réplicas de adiconado de muestra de agua natural.

ADICIONADO DE 19,8 mg O₂/L MUESTRA DE AGUA NATURAL (mg O₂/L)			
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
1	21,76	21,89	21,14
2	21,40	22,01	21,50
3	20,92	22,61	21,75
4	22,00	22,61	20,66
5	21,88	22,37	20,78
6			
7			
promedio	21,59	22,30	21,17
Valor Mínimo	20,92	21,89	20,66
Valor Máximo	22,00	22,61	21,75
t bajo	1,54	1,22	1,10
t alto	0,93	0,93	1,25
t para Rechazo	1,67	1,67	1,67
Nro total de datos	5	5	5
Nro datos OK	5	5	5

Tabla 51. Rechazo de datos para resultados de réplicas de adición de muestra de agua residual.

ADICIONADO DE 198 mg O₂/L MUESTRA DE AGUA RESIDUAL (mg O₂/L)			
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
1	272,94	271,83	271,56
2	265,72	264,62	267,96
3	266,92	269,43	265,56
4	270,53	265,82	266,75
5	268,13	262,21	267,95
6			
7			
promedio	268,85	266,78	267,96
Valor Mínimo	265,72	262,21	265,56
Valor Máximo	272,94	271,83	271,56
t bajo	1,08	1,19	1,07
t alto	1,41	1,32	1,60
t para Rechazo	1,67	1,67	1,67
Nro total de datos	4	5	5
Nro datos OK	4	5	5

Tabla 52. Resultados obtenidos de la validación de demanda bioquímica de oxígeno.

ENSAYOS	ESTÁNDARES (mg O ₂ /L)			MUESTRAS (mg O ₂ /L)		ADICIONADOS (mg O ₂ /L)	
	19,8	198	990	MAN	MAR	MAN + 19,8	MAR + 198
DÍA 1	17,42	172,17	912,91	4,51	108,81	21,76	272,94
	17,54	172,17	924,92	4,03	102,80	21,40	265,72
	17,30	175,18	912,90	4,39	105,81	20,92	266,92
	17,18	175,17	906,91	4,03	107,61	22,00	270,53
	18,14	177,18	942,93	4,21		21,88	268,13
DÍA 2	18,73	182,12	936,63	4,03	103,44	21,89	271,83
	17,17	181,12	942,63	4,15	105,25	22,01	264,62
	17,05	177,12	918,61	4,21	105,25	22,61	269,43
	17,41	180,12	924,62	4,39	100,43	22,61	265,82
	17,77	179,12	942,64	4,21	106,45	22,37	262,21
DÍA 3	18,86	182,24	943,25	3,90	106,94	21,14	271,56
	18,62	184,24	925,22	4,02	102,14	21,50	267,96
	18,14	184,24	931,23	4,14	104,54	21,75	265,56
	18,14	182,24	937,25	4,08	102,14	20,66	266,75
	17,90	178,24	931,25	4,26	100,94	20,78	267,95
DÍA 3 ANALISTA 2	18,60	176,00	942,00	N.A	N.A	N.A	N.A
	18,36	181,00	948,00	N.A	N.A	N.A	N.A
	18,36	182,00	936,00	N.A	N.A	N.A	N.A
	18,24	182,00	930,00	N.A	N.A	N.A	N.A
	17,76	179,00	930,00	N.A	N.A	N.A	N.A

Tabla 53. Resultados de exactitud para los estándares evaluados.

EXACTITUD ANALISTA 1												
ENSAYOS	RANGO BAJO (19,8 mg O ₂ /L)			RANGO MEDIO (198 mg O ₂ /L)			RANGO ALTO (990 mg O ₂ /L)					
	mg O ₂ /L	% Error	% Error prom	mg O ₂ /L	% Error	% Error prom	mg O ₂ /L	% Error	% Error prom			
DÍA 1	17,42	12,03	9,97	172,17	13,04	9,67	912,91	7,79	6,17			
	17,54	11,43		172,17	13,04		924,92	6,57				
	17,30	12,64		175,18	11,53		912,90	7,79				
	17,18	13,24		175,17	11,53		906,91	8,39				
	18,14	8,39		177,18	10,52		942,93	4,75				
DÍA 2	18,73	5,39		182,12	8,02		936,63	5,39				
	17,17	13,28		181,12	8,52		942,63	4,78				
	17,05	13,88		177,12	10,55		918,61	7,21				
	17,41	12,06		180,12	9,03		924,62	6,60				
	17,77	10,24		179,12	9,54		942,64	4,78				
DÍA 3	18,86	4,72		182,24	7,96		943,25	4,72				
	18,62	5,94		184,24	6,95		925,22	6,54				
	18,14	8,36		184,24	6,95		931,23	5,94				
	18,14	8,36		182,24	7,96		937,25	5,33				
	17,90	9,57		178,24	9,98		931,25	5,93				
EXACTITUD ANALISTA 2												
ENSAYOS	RANGO BAJO (19,8 mg O ₂ /L)			RANGO MEDIO (198 mg O ₂ /L)			RANGO ALTO (990 mg O ₂ /L)					
	mg O ₂ /L	% Error	% Error prom	mg O ₂ /L	% Error	% Error prom	mg O ₂ /L	% Error	% Error prom			
DÍA 3 ANALISTA 2	18,60	6,06	7,76	176,00	11,11	9,09	942,00	4,85	5,33			
	18,36	7,27		181,00	8,59		948,00	4,24				
	18,36	7,27		182,00	8,08		936,00	5,45				
	18,24	7,88		182,00	8,08		930,00	6,06				
	17,76	10,30		179,00	9,60		930,00	6,06				

Tabla 54. Resultados de precisión como repetibilidad y reproducibilidad entre días para los estándares evaluados.

PRECISIÓN Repetibilidad y Reproducibilidad entre días- ESTÁNDARES ANALISTA 1															
ENSAYOS	RANGO BAJO (19,8 mg O ₂ /L)					RANGO MEDIO (198 mg O ₂ /L)					RANGO ALTO (990 mg O ₂ /L)				
	mg O ₂ /L	X	s	%CV	%CV	mg O ₂ /L	X	s	%CV	%CV	mg O ₂ /L	X	s	%CV	%CV
DÍA 1	17,42	17,51	0,37	2,14	3,35	172,17	174,37	2,17	1,24	2,22	912,91	920,11	14,33	1,56	1,31
	17,54					172,17					924,92				
	17,30					175,18					912,90				
	17,18					175,17					906,91				
	18,14					177,18					942,93				
DÍA 2	18,73	17,63	0,68	3,84		182,12	179,92	1,92	1,07		936,63	933,02	10,91	1,17	
	17,17					181,12					942,63				
	17,05					177,12					918,61				
	17,41					180,12					924,62				
	17,77					179,12					942,64				
DÍA 3	18,86	18,34	0,39	2,15	182,24	182,24	2,45	1,35	943,25	933,64	6,85	0,73			
	18,62				184,24				925,22						
	18,14				184,24				931,23						
	18,14				182,24				937,25						
	17,90				178,24				931,25						

Tabla 55. Resultados de precisión como repetibilidad y reproducibilidad entre analistas para los estándares evaluados.

PRECISIÓN Reproducibilidad entre analistas- ESTÁNDARES ANALISTA 2															
ENSAYOS	RANGO BAJO (19,8 mg O ₂ /L)					RANGO MEDIO (198 mg O ₂ /L)					RANGO ALTO (990 mg O ₂ /L)				
	mg O ₂ /L	X	s	%CV	%CV	mg O ₂ /L	X	s	%CV	%CV	mg O ₂ /L	X	s	%CV	%CV
DÍA 3 ANALISTA 2	18,60	18,26	0,31	1,70	1,84	176,00	180,00	2,55	1,42	1,46	942,00	937,20	7,82	0,83	0,77
	18,36					181,00					948,00				
	18,36					182,00					936,00				
	18,24					182,00					930,00				
	17,76					179,00					930,00				
	18,86					182,24					943,25				
DÍA 3 ANALISTA 1	18,62	18,34	0,39	2,15	1,84	184,24	182,24	2,45	1,35	1,46	925,22	933,64	6,85	0,73	0,77
	18,14					184,24					931,23				
	18,14					182,24					937,25				
	17,90					178,24					931,25				

Tabla 56. Resultados de precisión como repetibilidad y reproducibilidad entre días para las muestras.

PRECISIÓN MUESTRAS										
ENSAYOS	MUESTRA DE AGUA NATURAL					MUESTRA DE AGUA RESIDUAL				
	mg O ₂ /L	X	s	%CV	%CV	mg O ₂ /L	X	s	%CV	%CV
DÍA 1	4,51	4,23	0,22	5,09	3,98	108,81	106,26	2,62	2,46	2,45
	4,03					102,80				
	4,39					105,81				
	4,03					107,61				
	4,21									
DÍA 2	4,03	4,20	0,13	3,11		103,44	104,16	2,35	2,25	
	4,15					105,25				
	4,21					105,25				
	4,39					100,43				
	4,21					106,45				
DÍA 3	3,90	4,08	0,13	3,29		106,94	103,34	2,40	2,33	
	4,02					102,14				
	4,14					104,54				
	4,08					102,14				
	4,26					100,94				

Tabla 57. Resultados de precisión como repetibilidad y reproducibilidad entre días para adicionados de muestras.

PRECISIÓN DE ADICIONADOS										
ENSAYOS	ADICIONADO MUESTRA DE AGUA NATURAL (19,8 mg O ₂ /L)					ADICIONADO MUESTRA DE AGUA RESIDUAL (198 mg O ₂ /L)				
	mg O ₂ /L	X	s	%CV	%CV	mg O ₂ /L	X	s	%CV	%CV
DÍA 1	21,76	21,59	0,44	2,03	2,85	272,94	268,85	2,90	1,08	1,11
	21,40					265,72				
	20,92					266,92				
	22,00					270,53				
	21,88					268,13				
DÍA 2	21,89	22,30	0,34	1,51		271,83	266,78	3,84	1,44	
	22,01					264,62				
	22,61					269,43				
	22,61					265,82				
	22,37					262,21				
DÍA 3	21,14	21,17	0,46	2,18	271,56	267,96	2,25	0,84		
	21,50				267,96					
	21,75				265,56					
	20,66				266,75					
	20,78				267,95					

Tabla 58. Resultados de porcentajes de recuperación para adicionados de muestras.

% DE RECUPERACIÓN DE ADICIONADOS						
ENSAYOS	AGUA NATURAL + 19,8 mg O ₂ /L			AGUA RESIDUAL + 198 mg O ₂ /L		
	mg O ₂ /L	% Recuperación	% Recuperación prom	mg O ₂ /L	% Recuperación	% Recuperación prom
DÍA 1	21,76	88,53	88,46	272,94	84,18	82,46
	21,40	86,70		265,72	80,53	
	20,92	84,27		266,92	81,14	
	22,00	89,74		270,53	82,96	
	21,88	89,14		268,13	81,75	
DÍA 2	21,89	89,36		271,83	84,68	
	22,01	89,96		264,62	81,04	
	22,61	93,00		269,43	83,47	
	22,61	93,00		265,82	81,64	
	22,37	91,79		262,21	79,82	
DÍA 3	21,14	86,17		271,56	84,96	
	21,50	87,99		267,96	83,14	
	21,75	89,20		265,56	81,93	
	20,66	83,74		266,75	82,53	
	20,78	84,34		267,95	83,14	

Tabla 59. Fuentes de incertidumbre asociadas a la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno de estándar bajo 19,8 mg O₂/L.

ESTÁNDAR DE 19,8 mg O ₂ /L			
	Fuente	Incertidumbre estándar relativa (Ur)	Incertidumbre estándar relativa al cuadrado (Ur) ²
Incertidumbre Asociadas a preparación del Estándar de 990 mg O ₂ /L	Incertidumbre pesaje de Glucosa	1,32,E-04	1,75E-08
	Incertidumbre pureza de Glucosa	3,95,E-03	1,56E-05
	Incertidumbre pesaje de Ácido glutámico	1,32,E-04	1,75E-08
	Incertidumbre pureza de Ácido glutámico	2,90,E-03	8,42E-06
	Incertidumbre matraz donde se preparó el estándar	5,21,E-04	2,71E-07
Incertidumbre Asociadas a preparación del Estándar bajo de 19,8 mg O ₂ /L	Incertidumbre pipeta usada para preparar estándar bajo	1,16,E-03	1,34E-06
	Incertidumbre matraz usado para preparar estándar bajo	6,89,E-04	4,75E-07
	Incertidumbre alícuota estándar bajo	5,82,E-04	3,39E-07
Incertidumbre asociada a alícuota de nutrientes adicionada al agua de dilución	Incertidumbre alícuota solución tampón de fosfato	2,89,E-03	8,34E-06
	Incertidumbre alícuota solución de sulfato de magnesio	2,89,E-03	8,35E-06
	Incertidumbre alícuota solución de cloruro de calcio	2,89,E-03	8,34E-06
	Incertidumbre alícuota solución de cloruro férrico	2,89,E-03	8,34E-06
	Incertidumbre de la incubadora para DBO ₅	2,75,E-02	7,58E-04
	Incertidumbre alícuota de inóculo	4,67,E-04	2,18E-07
	Incertidumbre termómetro para verificación de temperatura para agua de dilución	4,75,E-02	2,26E-03
Incertidumbre asociada a la reproducibilidad	Incertidumbre Reproducibilidad entre días	3,35,E-02	1,12E-03
	Incertidumbre de la determinación de oxígeno disuelto a 20 °C	1,97,E-02	3,90E-04
		Sumatoria	4,59E-03
		Raíz	6,78E-02
		Incertidumbre final expandida	2,68
		El valor es reportado con un factor de cobertura K=2 como	19,80 +/- 2,68 mg O₂/L

Tabla 60. Fuentes de incertidumbre asociadas a la determinación de la demanda bioquímica oxígeno de estándar medio 198 mg O₂/L.

ESTÁNDAR DE 198 mg O ₂ /L			
	Fuente	Incertidumbre estándar relativa (Ur)	Incertidumbre estándar relativa al cuadrado (Ur) ²
Incertidumbre Asociadas a preparación del Estándar de 990 mg O₂/L	Incertidumbre pesaje de Glucosa	1,32,E-04	1,75E-08
	Incertidumbre pureza de Glucosa	3,95,E-03	1,56E-05
	Incertidumbre pesaje de Ácido glutámico	1,32,E-04	1,75E-08
	Incertidumbre pureza de Ácido glutámico	2,90,E-03	8,42E-06
	Incertidumbre matraz donde se preparó el estándar	5,21,E-04	2,71E-07
Incertidumbre Asociadas a preparación del Estándar bajo de 198 mg O₂/L	Incertidumbre pipeta usada para preparar estándar medio	5,82,E-04	3,39E-07
	Incertidumbre matraz usado para preparar estándar medio	1,50,E-03	2,25E-06
	Incertidumbre alícuota estándar medio	2,89,E-03	8,34E-06
Incertidumbre asociada a alícuota de nutrientes adicionada al agua de dilución	Incertidumbre alícuota solución tampón de fosfato	2,89,E-03	8,34E-06
	Incertidumbre alícuota solución de sulfato de magnesio	2,89,E-03	8,35E-06
	Incertidumbre alícuota solución de cloruro de calcio	2,89,E-03	8,34E-06
	Incertidumbre alícuota solución de cloruro férrico	2,89,E-03	8,34E-06
	Incertidumbre de la incubadora para DBO ₅	2,75,E-02	7,58E-04
	Incertidumbre alícuota de inóculo	4,67,E-04	2,18E-07
	Incertidumbre termómetro para verificación de temperatura para agua de dilución	4,75,E-02	2,26E-03
Incertidumbre asociada a la reproducibilidad	Incertidumbre Reproducibilidad entre días	2,22,E-02	4,94E-04
	Incertidumbre de la determinación de oxígeno disuelto a 20 °C	1,97,E-02	3,90E-04
		Sumatoria	3,97E-03
		Raiz	6,30E-02
		Incertidumbre final expandida	24,95
		El valor es reportado con un factor de cobertura K=2 como	198,00 +/- 24,95 mg O₂/L

Tabla 61. Fuentes de incertidumbre asociadas a la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno de estándar alto 990 mg O₂/L.

ESTÁNDAR DE 990 mg O ₂ /L			
	Fuente	Incertidumbre estándar relativa (UR)	Incertidumbre estándar relativa al cuadrado (UR) ²
Incertidumbre Asociadas a preparación del Estándar de 990 mg O ₂ /L	Incertidumbre pesaje de Glucosa	1,32,E-04	1,75E-08
	Incertidumbre pureza de Glucosa	3,95,E-03	1,56E-05
	Incertidumbre pesaje de Ácido glutámico	1,32,E-04	1,75E-08
	Incertidumbre pureza de Ácido glutámico	2,90,E-03	8,42E-06
	Incertidumbre matraz donde se preparó el estándar	5,21,E-04	2,71E-07
	Incertidumbre alícuota estándar alto	5,27,E-04	2,77E-07
Incertidumbre asociada a alícuota de nutrientes adicionada al agua de dilución	Incertidumbre alícuota solución tampón de fosfato	2,89,E-03	8,34E-06
	Incertidumbre alícuota solución de sulfato de magnesio	2,89,E-03	8,35E-06
	Incertidumbre alícuota solución de cloruro de calcio	2,89,E-03	8,34E-06
	Incertidumbre alícuota solución de cloruro férrico	2,89,E-03	8,34E-06
	Incertidumbre de la incubadora para DBO ₅	2,75,E-02	7,58E-04
	Incertidumbre alícuota de inóculo	4,67,E-04	2,18E-07
	Incertidumbre termómetro para verificación de temperatura para agua de dilución	4,75,E-02	2,26E-03
Incertidumbre asociada a la reproducibilidad	Incertidumbre Reproducibilidad entre días	1,31,E-02	1,71E-04
	Incertidumbre de la determinación de oxígeno disuelto a 20 °C	1,97,E-02	3,90E-04
		Sumatoria	3,64E-03
		Raíz	6,03E-02
		Incertidumbre final expandida	119,39
		El valor es reportado con un factor de cobertura K=2 como	990,00 +/- 119,39 mg O₂/L

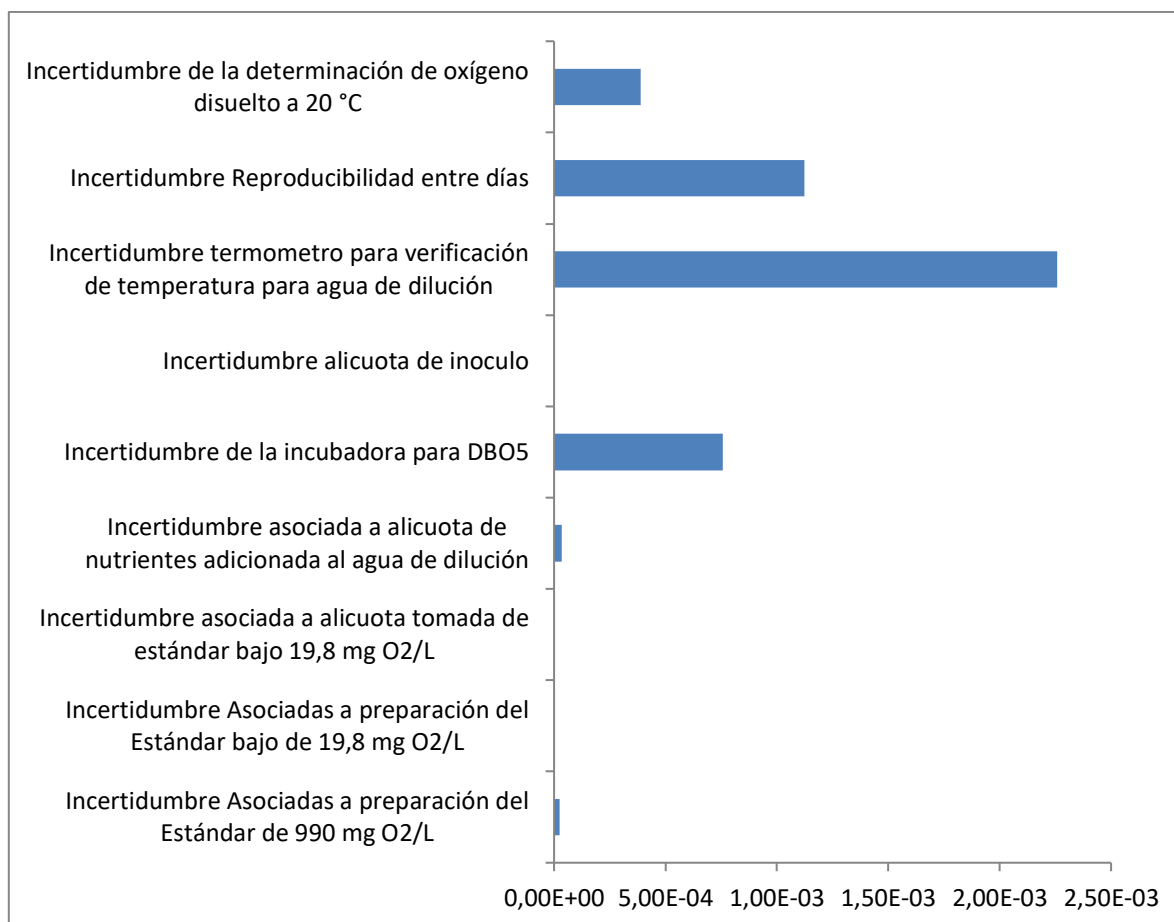


Figura 7. Contribuciones de las fuentes de incertidumbre estándar bajo 19,8 mg O₂/L.

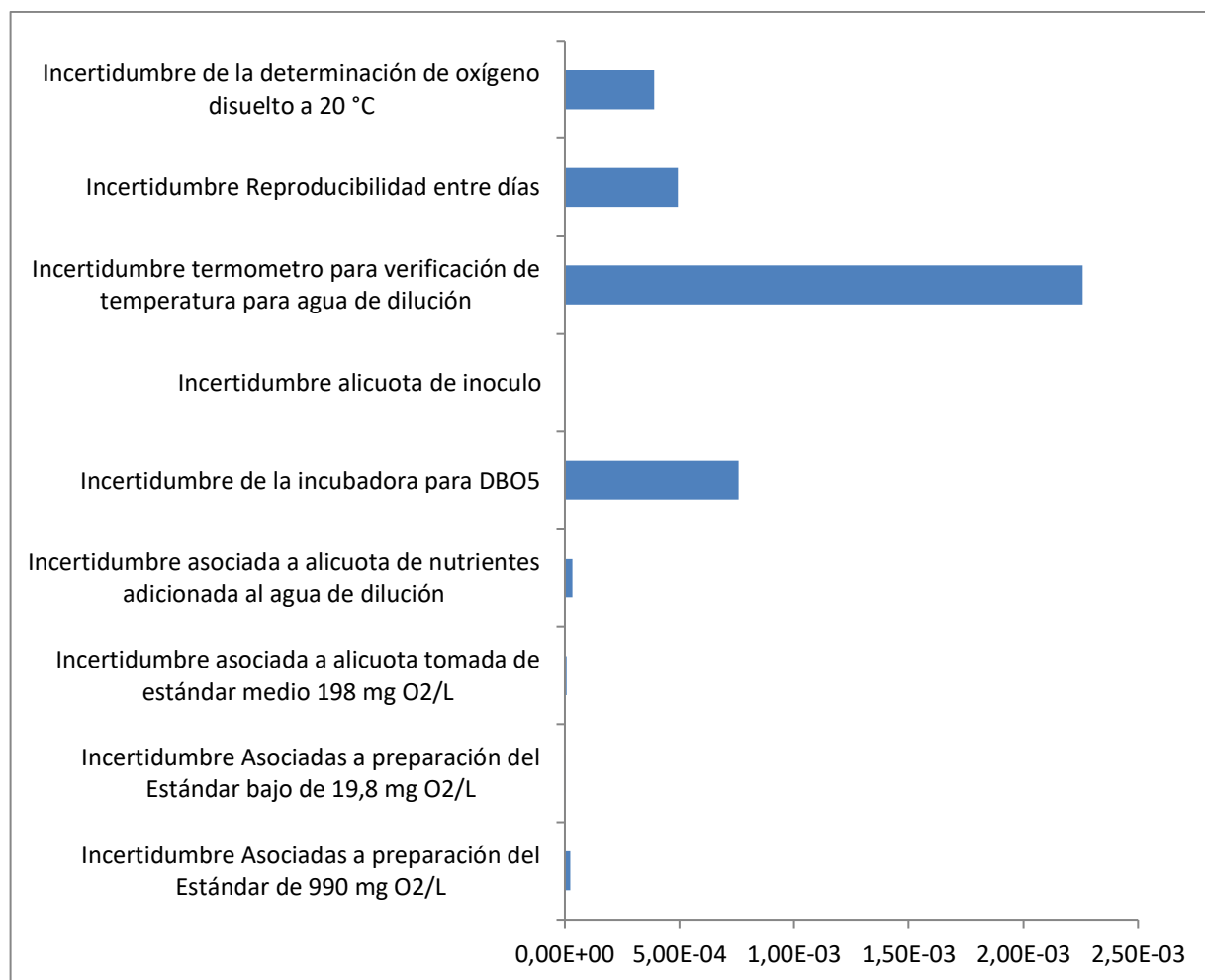


Figura 8. Contribuciones de las fuentes de incertidumbre estándar medio 198 mg O₂/L.

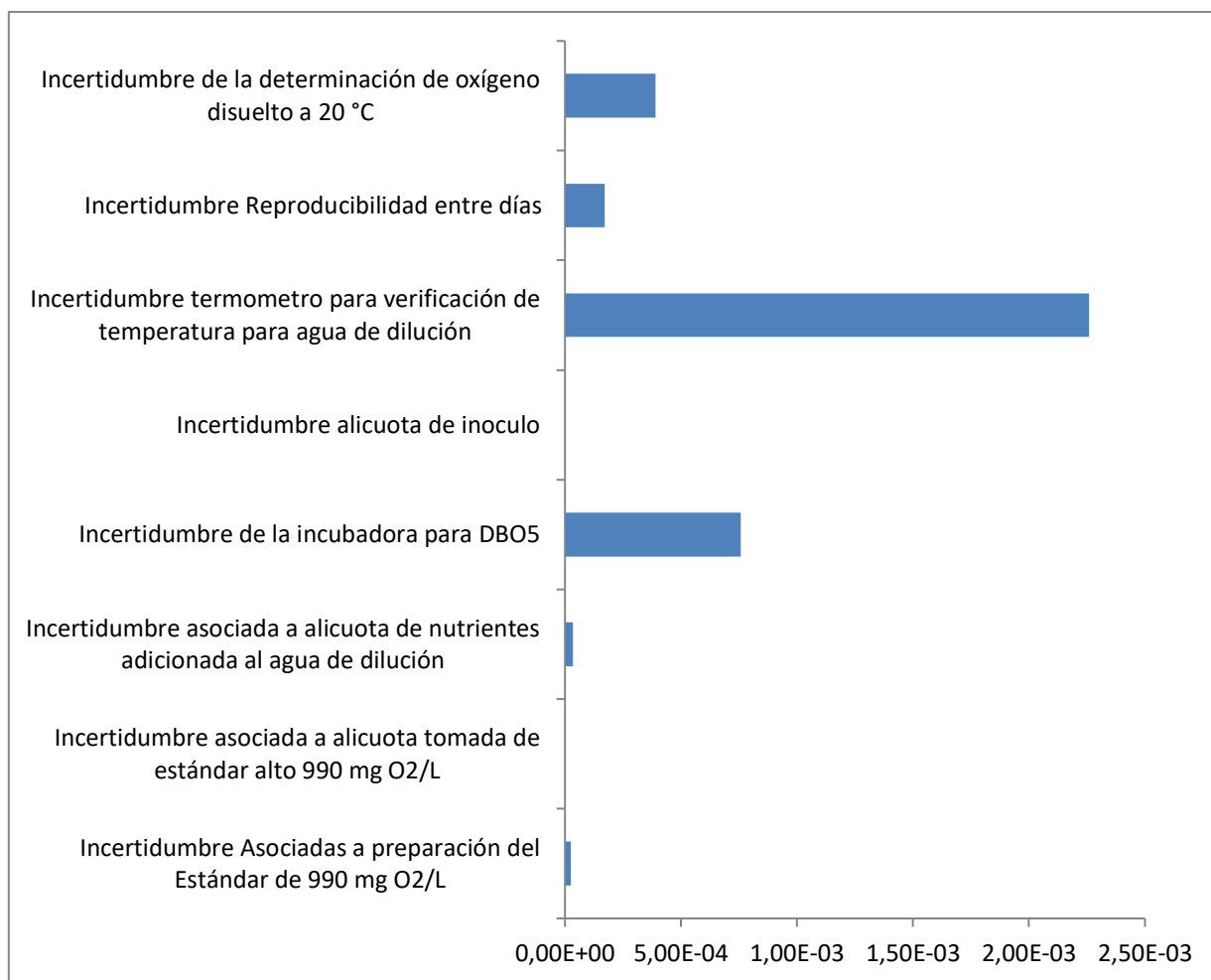


Figura 9. Contribuciones de las fuentes de incertidumbre estándar alto 990 mg O₂/L.

9.3. ANEXO 3 – VERIFICACIÓN DE MATERIAL VOLUMÉTRICO

Tabla 62. Verificación gravimétrica de balanza analítica.

Verificación balanza con pesa 1 gramo	
0,9996	
0,9998	
0,9996	
0,9997	
0,9997	
0,9996	
0,9996	
Promedio	0,9997
Desviación estándar	7,87E-05

Tabla 63. Verificación de matraz aforado de 1000 mL código interno: BAL-VD-1000-001.

Temperatura de verificación: 22°C	
masa de agua destilada en el matraz (g)	Verificación matraz de 1000 mL
999,6	1001,8
999,0	1001,2
999,4	1001,6
999,2	1001,4
999,2	1001,4
998,9	1001,1
999,0	1001,2
Promedio	1001,4
Desviación estándar	0,25

Densidad del agua a 22 °C 0,997773 g/cm³

Tabla 64. Verificación de bureta de 10 mL código interno: BUR-VD-10-001.

Temperatura de verificación: 22°C	
masa de agua destilada en la bureta (g)	Verificación bureta de 10 mL
9,9918	10,0141
9,9918	10,0141
9,9924	10,0147
9,9927	10,0150
9,9921	10,0144
9,9917	10,0140
9,9919	10,0142
Promedio	10,0144
Desviación estándar	3,70E-04

Densidad del agua a 22 °C 0,997773 g/cm³

Tabla 65. Verificación de pipeta volumétrica de 1 mL código interno: PIV-VD-1-001.

Temperatura de verificación: 22°C	
masa de agua destilada en la pipeta (g)	Verificación pipeta de 1mL solución MnSO ₄
0,9991	1,0013
0,9994	1,0016
0,9989	1,0011
0,9986	1,0008
0,9990	1,0012
0,9987	1,0009
0,9994	1,0016
Promedio	1,0012
Desviación estándar	3,14E-04

Densidad del agua a 22 °C 0,997773 g/cm³

Tabla 66. Verificación de pipeta volumétrica de 1 mL código interno: PIV-VD-1-002.

Temperatura de verificación: 22°C	
masa de agua destilada en la pipeta (g)	Verificación pipeta de 1 mL solución de Azida
0,9988	1,0010
0,9986	1,0008
0,9986	1,0008
0,9985	1,0007
0,9986	1,0008
0,9983	1,0005
0,9984	1,0006
Promedio	1,0008
Desviación estándar	1,62E-04

Densidad del agua a 22 °C 0,997773 g/cm³

Tabla 67. Verificación de pipeta volumétrica de 1 mL código interno: PIV-VD-1-003.

Temperatura de verificación: 22°C	
masa de agua destilada en la pipeta (g)	Verificación pipeta de 1 mL solución de H ₂ SO ₄
0,9986	1,0008
0,9990	1,0012
0,9991	1,0013
0,9984	1,0006
0,9985	1,0007
0,9985	1,0007
0,9987	1,0009
Promedio	1,0009
Desviación estándar	2,68E-04

Densidad del agua a 22 °C 0,997773 g/cm³

Tabla 68. Verificación de matraz aforado de 1000 mL código interno: BAL-VD-1000-002.

Temperatura de verificación: 22°C	
masa de agua destilada en el matraz (g)	Verificación matraz de 1000 mL
998,7	1000,9
998,9	1001,1
999,2	1001,4
999,5	1001,7
999,3	1001,5
999,0	1001,2
999,0	1001,2
Promedio	1001,3
Desviación estándar	0,27

Densidad del agua a 22 °C 0,997773 g/cm³

Tabla 69. Verificación de probeta graduada de 250 mL código interno: PRO-VD-250-001.

Temperatura de verificación: 22°C	
masa de agua destilada en la probeta (g)	Verificación probeta de 250 mL
249,9	250,5
249,7	250,3
249,6	250,2
249,6	250,2
249,8	250,4
249,5	250,1
249,7	250,3
Promedio	250,2430
Desviación estándar	1,35E-01

Densidad del agua a 22 °C 0,997773 g/cm³

Tabla 70. Verificación de matraz aforado de 1000 mL código interno: BAL-VD-1000-003.

Temperatura de verificación: 22°C	
masa de agua destilada en el matraz (g)	Verificación matraz de 1000 mL
995,0	997,2
995,1	997,3
995,0	997,2
993,9	996,1
994,8	997,0
995,1	997,3
995,3	997,5
Promedio	997,1
Desviación estándar	0,46

Densidad del agua a 22 °C 0,997773 g/cm³

Tabla 71. Verificación de pipeta volumétrica de 10 mL código interno: PIV-VD-10-007.

Temperatura de verificación: 22°C	
masa de agua destilada en la pipeta (g)	Verificación pipeta de 10 mL
9,9932	10,0155
9,9941	10,0164
9,9928	10,0151
9,9948	10,0171
9,9936	10,0159
9,9927	10,0150
9,9933	10,0156
Promedio	10,0158
Desviación estándar	7,46E-04

Densidad del agua a 22 °C 0,997773 g/cm³

Tabla 72. Verificación de pipeta volumétrica de 50 mL código interno: PIV-VD-50-005.

Temperatura de verificación: 22°C	
masa de agua destilada en la pipeta (g)	Verificación pipeta de 50 mL
49,9918	50,1034
49,9932	50,1048
49,9922	50,1038
49,9927	50,1043
49,9920	50,1036
49,9918	50,1034
49,9936	50,1052
Promedio	50,1041
Desviación estándar	7,15E-04

Densidad del agua a 22 °C 0,997773 g/cm³

Tabla 73. Verificación de matraz aforado de 500 mL código interno: BAL-VD-500-003.

Temperatura de verificación: 22°C	
masa de agua destilada en el matraz (g)	Verificación matraz de 500 mL
499,3	500,4
498,7	499,8
499,0	500,1
499,1	500,2
498,9	500,0
499,6	500,7
499,4	500,5
Promedio	500,3
Desviación estándar	3,11E-01

Densidad del agua a 22 °C 0,997773 g/cm³

Tabla 74. Verificación de matraz aforado de 250 mL código interno: BAL-VD-250-006.

Temperatura de verificación: 22°C	
masa de agua destilada en el matraz (g)	Verificación matraz de 250 mL
249,2	249,8
249,0	249,6
249,9	250,5
249,0	249,6
248,9	249,5
248,8	249,4
249,1	249,7
Promedio	249,7
Desviación estándar	3,65E-01

Densidad del agua a 22 °C 0,997773 g/cm³

Tabla 75. Verificación de pipeta volumétrica de 50 mL código interno: PIV-VD-50-002.

Temperatura de verificación: 22°C	
masa de agua destilada en la pipeta (g)	Verificación pipeta de 50 mL
49,9922	50,1038
49,9922	50,1038
49,9916	50,1032
49,9908	50,1024
49,9913	50,1029
49,9920	50,1036
49,9921	50,1037
Promedio	50,1033
Desviación estándar	5,36E-04

Densidad del agua a 22 °C 0,997773 g/cm³

Tabla 76. Verificación de pipeta volumétrica de 10 mL código interno: PIV-VD-10-004.

Temperatura de verificación: 22°C	
masa de agua destilada en la pipeta (g)	Verificación pipeta de 10 mL
9,9912	10,0135
9,9918	10,0141
9,9909	10,0132
9,9926	10,0149
9,9904	10,0127
9,9913	10,0136
9,9910	10,0133
Promedio	10,0136
Desviación estándar	7,10E-04

Densidad del agua a 22 °C 0,997773 g/cm³

Tabla 77. Verificación de pipeta volumétrica de 1 mL código interno: PIV-VD-1-004.

Temperatura de verificación: 22°C	
masa de agua destilada en la pipeta (g)	Verificación pipeta de 1 mL
0,9986	1,0008
0,9982	1,0004
0,9981	1,0003
0,9989	1,0011
0,9979	1,0001
0,9979	1,0001
0,9986	1,0008
Promedio	1,0005
Desviación estándar	3,90E-04

Densidad del agua a 22 °C 0,997773 g/cm³

Tabla 78. Verificación de pipeta graduada de 10 mL código interno: PIG-VD-10-001.

Temperatura de verificación: 22°C	
masa de agua destilada en la pipeta (g)	Verificación pipeta de 10 mL Tampón fosfato
9,9910	10,0133
9,9923	10,0146
9,9915	10,0138
9,9920	10,0143
9,9911	10,0134
9,9925	10,0148
9,9917	10,0140
Promedio	10,0140
Desviación estándar	5,75E-04

Densidad del agua a 22 °C 0,997773 g/cm³

Tabla 79. Verificación de pipeta graduada de 10 mL código interno: PIG-VD-10-002.

Temperatura de verificación: 22°C	
masa de agua destilada en la pipeta (g)	Verificación pipeta de 10 mL solución de MgSO4
9,9904	10,0127
9,9901	10,0124
9,9898	10,0121
9,9916	10,0139
9,9921	10,0144
9,9915	10,0138
9,9917	10,0140
Promedio	10,0133
Desviación estándar	9,07E-04

Densidad del agua a 22 °C 0,997773 g/cm³

Tabla 80. Verificación de pipeta graduada de 10 mL código interno: PIG-VD-10-003.

Temperatura de verificación: 22°C	
masa de agua destilada en la pipeta (g)	Verificación pipeta de 10 mL solución de CaCl ₂
9,9901	10,0124
9,9909	10,0132
9,9913	10,0136
9,9914	10,0137
9,9903	10,0126
9,9915	10,0138
9,9907	10,0130
Promedio	10,0132
Desviación estándar	5,50E-04

Densidad del agua a 22 °C 0,997773 g/cm³

Tabla 81. Verificación de pipeta graduada de 10 mL código interno: PIG-VD-10-004.

Temperatura de verificación: 22°C	
masa de agua destilada en la pipeta (g)	Verificación pipeta de 10 mL solución de FeCl ₃
9,9915	10,0138
9,9931	10,0154
9,9922	10,0145
9,9927	10,0150
9,9914	10,0137
9,9926	10,0149
9,9923	10,0146
Promedio	10,0146
Desviación estándar	6,26E-04

Densidad del agua a 22 °C 0,997773 g/cm³

Tabla 82. Verificación de pipeta volumétrica de 1 mL código interno: PIV-VD-1-006.

Temperatura de verificación: 22°C	
masa de agua destilada en la pipeta (g)	Verificación pipeta de 1 mL
0,9984	1,0006
0,9990	1,0012
0,9983	1,0005
0,9988	1,0010
0,9986	1,0008
0,9989	1,0011
0,9991	1,0013
Promedio	1,0010
Desviación estándar	3,05E-04

Densidad del agua a 22 °C 0,997773 g/cm³